

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

United States Patent and Trademark
Office
(Box PCT)
Crystal Plaza 2
Washington, DC 20231
ÉTATS-UNIS D'AMÉRIQUE

in its capacity as elected Office

Date of mailing (day/month/year) 16 July 1999 (16.07.99)	
International application No. PCT/EP98/06868	Applicant's or agent's file reference 1997/L238
International filing date (day/month/year) 29 October 1998 (29.10.98)	Priority date (day/month/year) 15 November 1997 (15.11.97)
Applicant PEYMAN, Anuschirwan et al	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

☒ in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:

11 June 1999 (11.06.99)

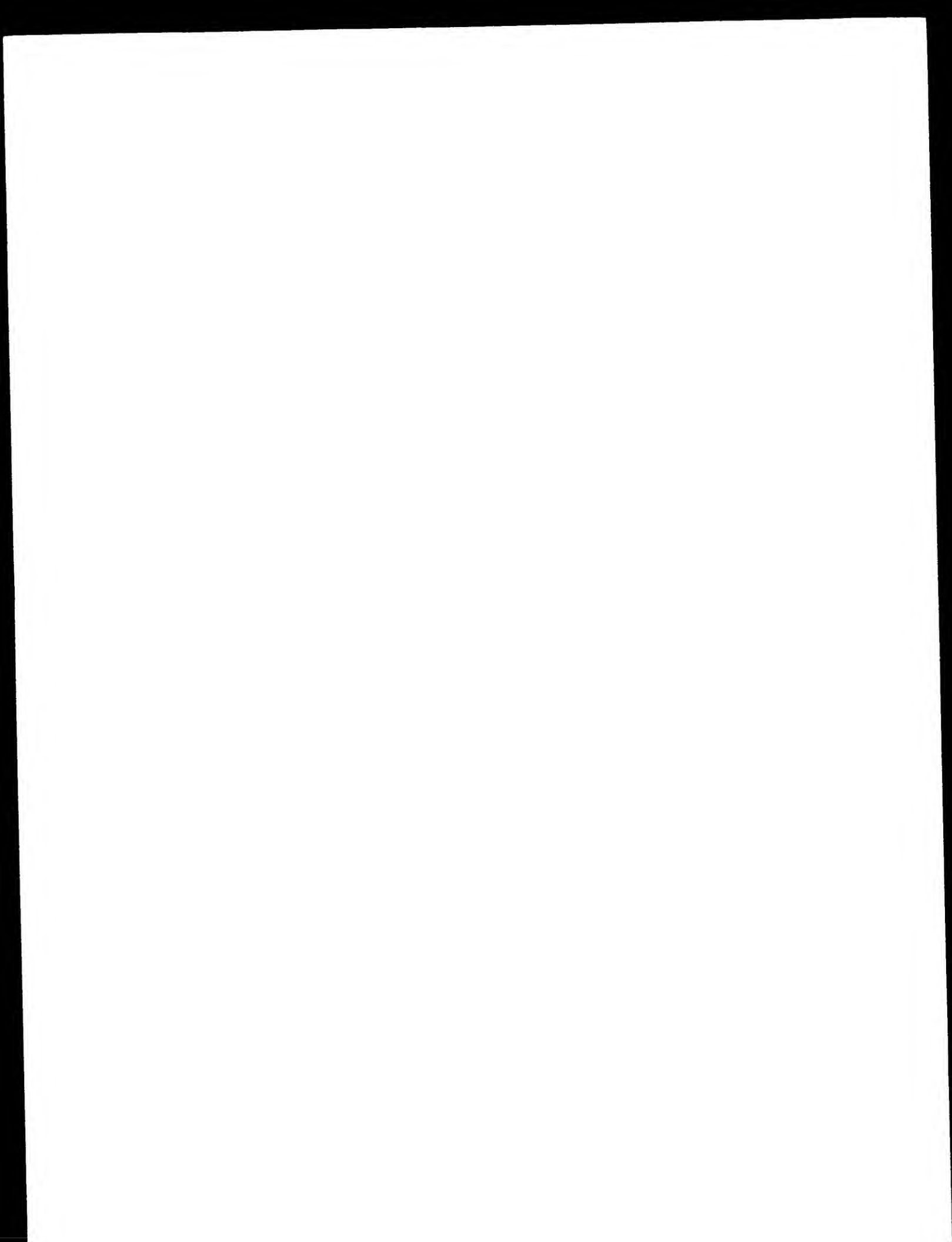
☐ in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election ☒ was

☐ was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No.: (41-22) 740.14.35	Authorized officer <p style="text-align: center;">F. Baechler</p> Telephone No.: (41-22) 338.83.38
---	---



F ISENT COOPERATION TREA

PCT

From the INTERNATIONAL BUREAU

NOTIFICATION OF THE RECORDING
OF A CHANGE(PCT Rule 92bis.1 and
Administrative Instructions, Section 422)

To:

AVENTIS PHARMA DEUTSCHLAND GMBH
Patent- und Lizenzabteilung
Gebäude K 801
D-65926 Frankfurt am Main
ALLEMAGNE

Date of mailing (day/month/year) 19 January 2000 (19.01.00)	IMPORTANT NOTIFICATION
Applicant's or agent's file reference 1997/L238	
International application No. PCT/EP98/06868	International filing date (day/month/year) 29 October 1998 (29.10.98)

1. The following indications appeared on record concerning:

☒ the applicant ☐ the inventor ☐ the agent ☐ the common representative

Name and Address HOECHST MARION ROUSSEL DEUTSCHLAND GMBH Brüningstrasse 50 D-65929 Frankfurt am Main Germany	State of Nationality DE	State of Residence DE
	Telephone No. 069 / 305-6037	
	Facsimile No. 069 / 35-7175	
	Teleprinter No. 4 1234 700 ho d	

2. The International Bureau hereby notifies the applicant that the following change has been recorded concerning:

☐ the person ☒ the name ☐ the address ☐ the nationality ☐ the residence

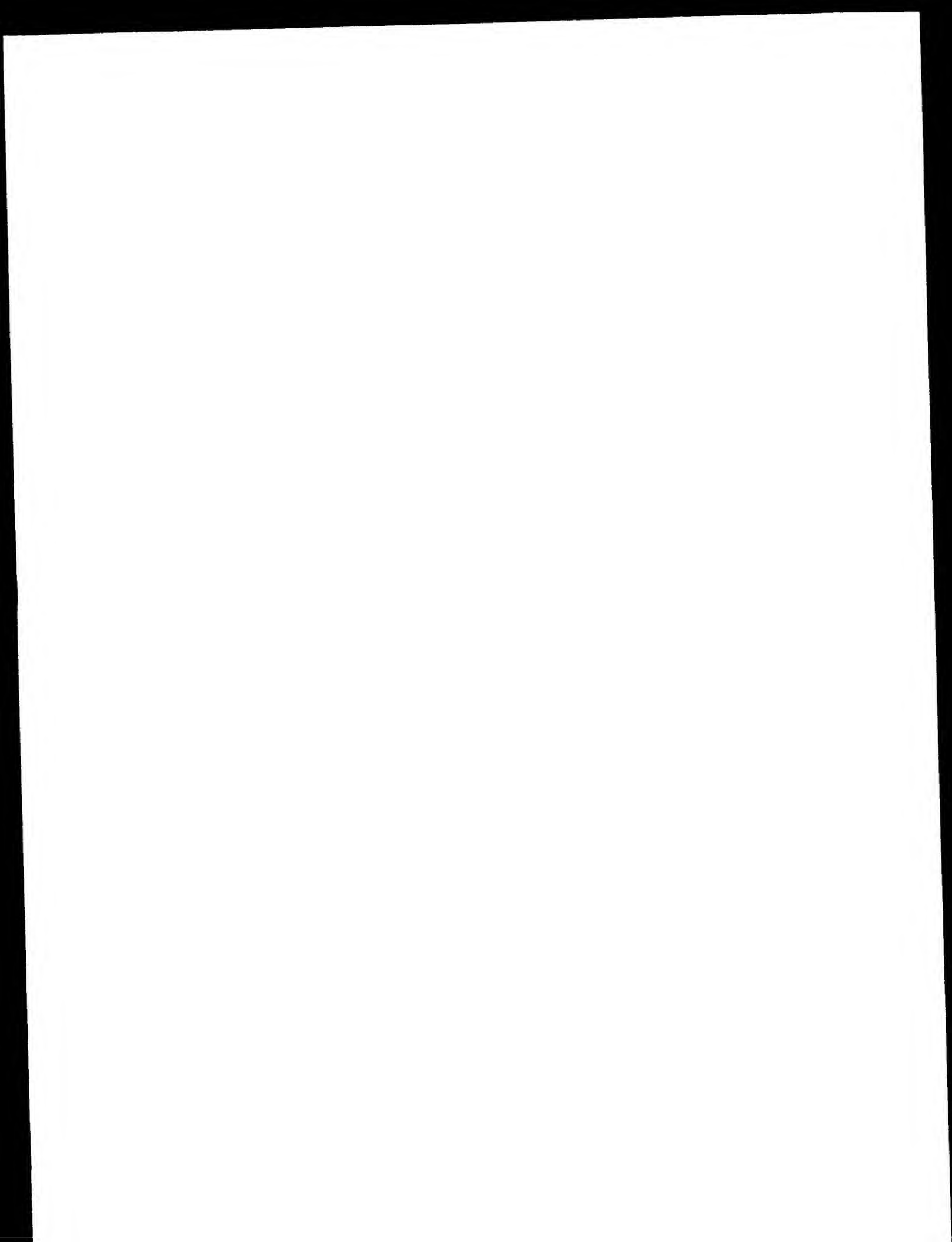
Name and Address AVENTIS PHARMA DEUTSCHLAND GMBH Brüningstrasse 50 D-65929 Frankfurt am Main Germany	State of Nationality DE	State of Residence DE
	Telephone No. 069 / 305-6037	
	Facsimile No. 069 / 35-7175	
	Teleprinter No. 4 1234 700 ho d	

3. Further observations, if necessary:

4. A copy of this notification has been sent to:

<input checked="" type="checkbox"/> the receiving Office	<input type="checkbox"/> the designated Offices concerned
<input type="checkbox"/> the International Searching Authority	<input checked="" type="checkbox"/> the elected Offices concerned
<input checked="" type="checkbox"/> the International Preliminary Examining Authority	<input type="checkbox"/> other:

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No. (41-22) 740 14 35	Authorized officer G. Bahr Telephone No. (41-22) 338 83 38
--	--



VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts 1997/L238	WEITERES VORGEHEN siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5	
Internationales Aktenzeichen PCT/EP 98/ 06868	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 29/10/1998	(Frühestes) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) 15/11/1997
Anmelder HOECHST MARION ROUSSEL DEUTSCHLAND GMBH et al.		

Dieser internationale Recherchenbericht wurde von der Internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem Internationalen Büro übermittelt.

Dieser internationale Recherchenbericht umfaßt insgesamt 3 Blätter.

☒ Darüber hinaus liegt ihm jeweils eine Kopie der in diesem Bericht genannten Unterlagen zum Stand der Technik bei.

1. Grundlage des Berichts

a. Hinsichtlich der **Sprache** ist die internationale Recherche auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der Sprache durchgeführt worden, in der sie eingereicht wurde, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

☐ Die internationale Recherche ist auf der Grundlage einer bei der Behörde eingereichten Übersetzung der internationalen Anmeldung (Regel 23.1 b)) durchgeführt worden.

b. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale Recherche auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das

☒ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.

☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.

☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.

☒ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.

☒ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.

☒ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfaßten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

2. ☒ Bestimmte Ansprüche haben sich als nicht recherchierbar erwiesen (siehe Feld I).

3. ☒ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung (siehe Feld II).

4. Hinsichtlich der Bezeichnung der Erfindung

☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☐ wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt:

5. Hinsichtlich der Zusammenfassung

☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☐ wurde der Wortlaut nach Regel 38.2b) in der in Feld III angegebenen Fassung von der Behörde festgesetzt. Der Anmelder kann der Behörde innerhalb eines Monats nach dem Datum der Absendung dieses internationalen Recherchenberichts eine Stellungnahme vorlegen.

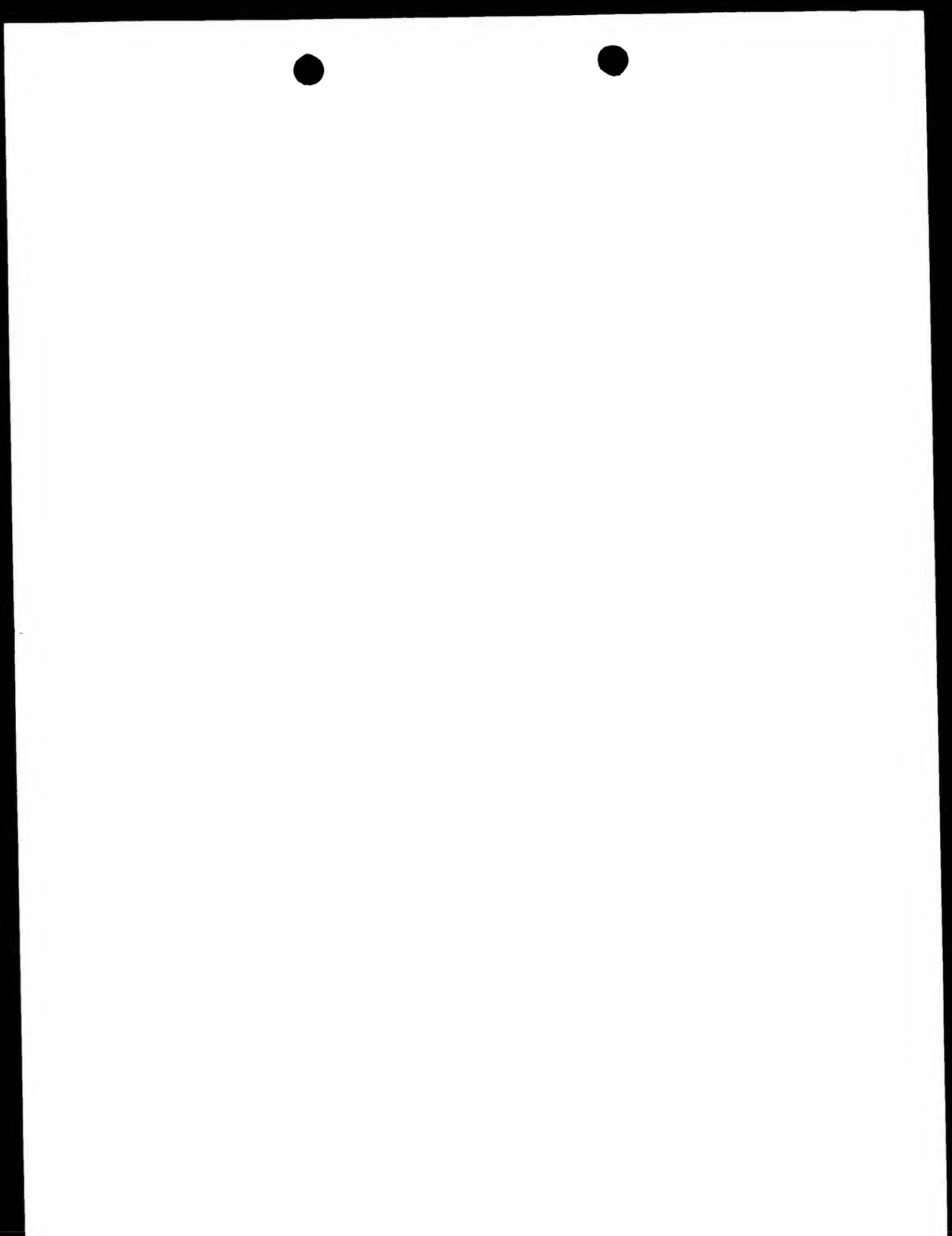
6. Folgende Abbildung der **Zeichnungen** ist mit der Zusammenfassung zu veröffentlichen: Abb. Nr.

☐ wie vom Anmelder vorgeschlagen

☐ weil der Anmelder selbst keine Abbildung vorgeschlagen hat.

☐ weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet

☐ keine der Abb.



Feld I Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. ☒ Ansprüche Nr.
weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich
siehe Zusatzblatt WEITERE ANGABEN PCT/ISA/210
2. ☐ Ansprüche Nr.
weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen,
daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich
3. ☐ Ansprüche Nr.
weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

Feld II Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

1. ☐ Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.
2. ☒ Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchegebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
3. ☐ Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.
4. ☐ Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

- ☐ Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt
- ☐ Die Zahlung zusätzlicher Recherchegebühren erfolgte ohne Widerspruch



WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere (Gruppen von) Erfindungen enthält, nämlich:

1. Ansprüche: 1-23 (Alle teilweise)

Oligonukleotide die an eine Nukleinsäure eines humanen Tenascins binden und dessen Expression inhibieren, wobei die Oligonukleotide eines der SEQ IDs 2-5, 7, 10, 18, 19, 21-24, 26, 29, 27, 28, 40-43, 45, 48, 56 oder 57 hat.

2. Ansprüche: 1-23 (Alle teilweise)

Sowie für Erfindung 1, aber sich auf SEQ IDs 6, 8, 9, 15, 17, 20, 25, 27, 28, 34, 36, 39, 44, 46, 47, 53, 55 und 58 beziehend

3. Ansprüche: 1-23 (Alle teilweise)

Sowie für Erfindung 1, aber sich auf SEQ IDs 11, 30 und 49 beziehend.

4. Ansprüche: 1-23 (Alle teilweise)

Sowie für Erfindung 1, aber sich auf SEQ IDs 12, 31 und 50 beziehend.

5. Ansprüche: 1-23 (Alle teilweise)

Sowie für Erfindung 1, aber sich auf SEQ IDs 13, 32 und 51 beziehend.

6. Ansprüche: 1-23 (Alle teilweise)

Sowie für Erfindung 1, aber sich auf SEQ IDs 14, 33 und 52 beziehend.

7. Ansprüche: 1-23 (Alle teilweise)

Sowie für Erfindung 1, aber sich auf SEQ IDs 16, 35 und 54 beziehend.



WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Fortsetzung von Feld I.1

Obwohl die Ansprüche 13-15 und 19 (insofern es sich um in vivo Verfahren handelt) sich auf ein Verfahren zur Behandlung/ein Diagnostizierverfahren des/das am menschlichen/tierischen Körpers beziehen/ausgeführt wird, wurde die Recherche durchgeführt und gründete sich auf die angeführten Wirkungen der Verbindung/Zusammensetzung.



Translation

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

12

Applicant's or agent's file reference 1997/L238	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT IPEA/416)	
International application No. PCT/EP98/06868	International filing date (<i>day month year</i>) 29 October 1998 (29.10.98)	Priority date (<i>day month year</i>) 15 November 1997 (15.11.97)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C12N 15 11		
Applicant AVENTIS PHARMA DEUTSCHLAND GMBH		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.

2. This REPORT consists of a total of 7 sheets, including this cover sheet.

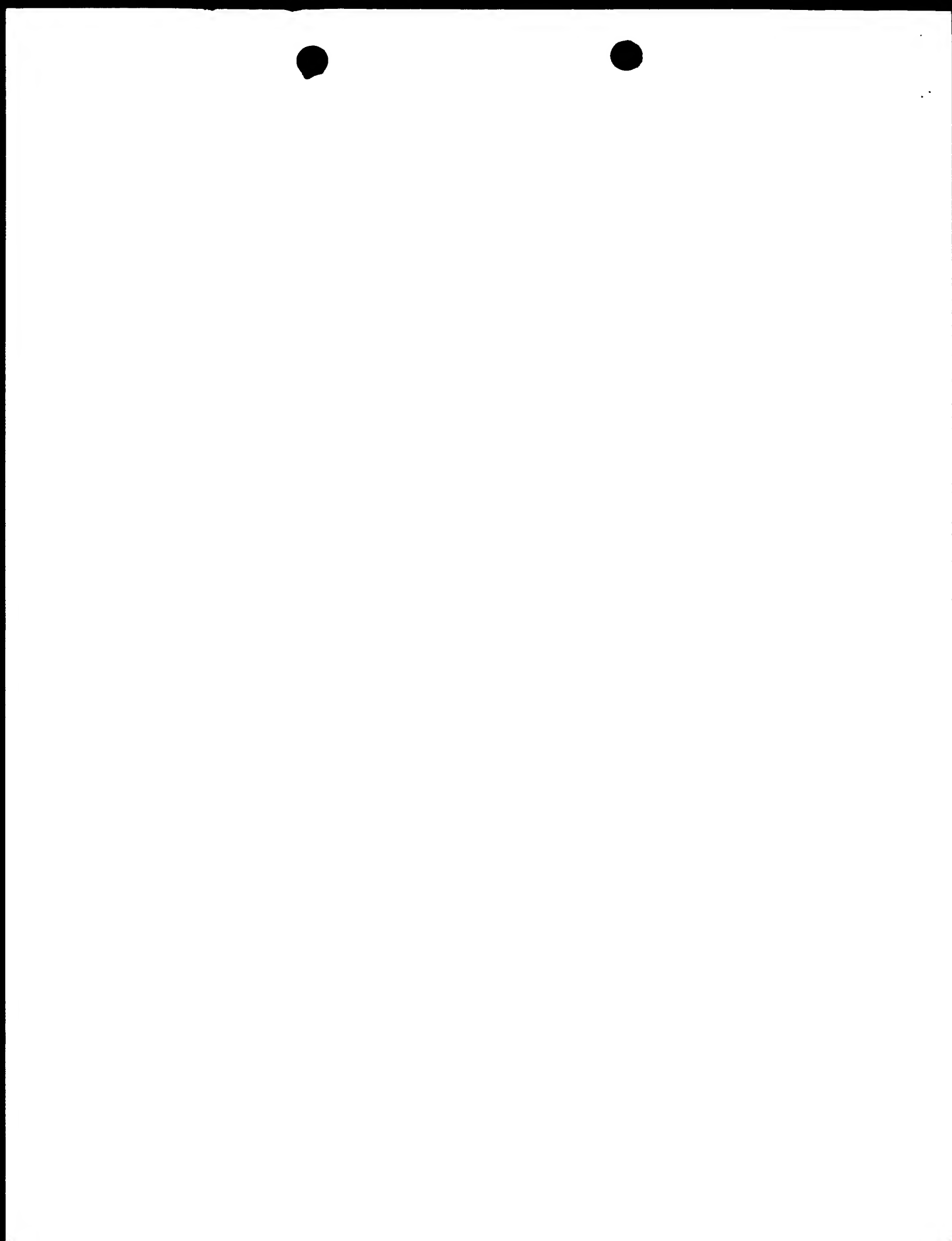
☐ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of _____ sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☐ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☐ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☐ Certain documents cited
- VII ☐ Certain defects in the international application
- VIII ☒ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 11 June 1999 (11.06.99)	Date of completion of this report 21 February 2000 (21.02.2000)
Name and mailing address of the IPEA EP	Authorized officer
Facsimile No	Telephone No



INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No

PCT/EP98/06868

I. Basis of the report

1. This report has been drawn on the basis of (*Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as 'originally filed' and are not annexed to the report since they do not contain amendments*)

- ☐ the international application as originally filed.
- ☒ the description. pages 1-28 . as originally filed.
 pages _____ . filed with the demand.
 pages _____ . filed with the letter of _____
 pages _____ . filed with the letter of _____
- ☒ the claims. Nos. 1-23 . as originally filed.
 Nos. _____ . as amended under Article 19.
 Nos. _____ . filed with the demand.
 Nos. _____ . filed with the letter of _____
 Nos. _____ . filed with the letter of _____
- ☒ the drawings. sheets/fig 1 20-20 20 . as originally filed.
 sheets/fig _____ . filed with the demand.
 sheets/fig _____ . filed with the letter of _____
 sheets/fig _____ . filed with the letter of _____

2. The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description. pages _____
- ☐ the claims. Nos. _____
- ☐ the drawings. sheets/fig _____

3 ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).

4. Additional observations, if necessary:



INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.
PCT/EP 98/06868

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Claims	1-23	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims	13-18, 20, 21	YES
	Claims	1-12, 19, 22, 23	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-12, 16-18, 20-23	YES
	Claims	13-15, 19	NO

2. Citations and explanations

The following documents are referred to:

D1: WO-A-94/21664, 29 September 1994

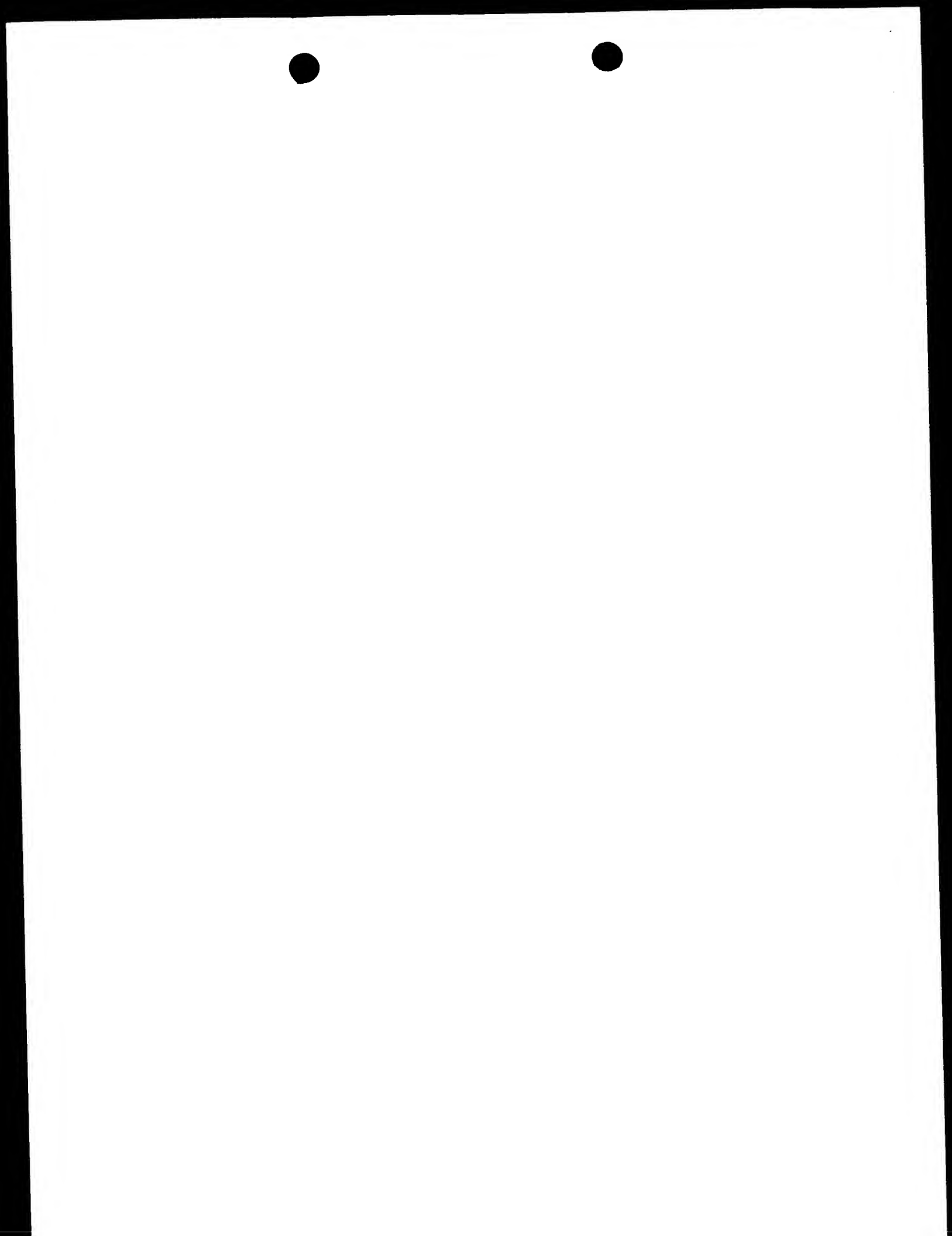
D2: WOOLF T M ET AL.: P.N.A.S., Vol. 89, 1 August 1992, pages 7305-7309

D3: DE-A-19 502 912, 1 August 1996

D4: PEYMAN A ET AL.: BIOLOGICAL CHEMISTRY HOPPE-SEYLER, Vol. 377, No. 1, January 1996, pages 67-70

1. Novelty (PCT Article 33(2))

1.1 The present application pertains to oligonucleotides of 7-15 nucleotide units in length that bind to a nucleic acid coding for isoforms of human tenascin or portions thereof and inhibit the expression of tenascin. These oligonucleotides may optionally be modified. Further claims pertain to the preparation and the use of said oligonucleotides, *inter alia* for the purpose of specifically inhibiting the expression of tenascin or in the preparation of drugs.



- 1.2 Oligonucleotides of this nature are not disclosed by the prior art. Consequently, the subject matter of Claim 1 meets the requirements of PCT Article 33(2), as do Claims 2-12, which are dependent on Claim 1, and Claims 13-23.
2. Inventive Step (PCT Article 33(3))
- 2.1 D1, which represents the closest prior art with respect to the present application, discloses:
antisense oligonucleotides of less than 50 nucleotides in length and especially preferably of less than 20 nucleotides in length that hybridize to the human tenascin gene (see page 3). The base pairs of the said oligonucleotides are linked by pseudophosphate bridges (e.g. phosphorothioate bridges), which exhibit improved resistance to cleavage by nucleases (see page 4). The antisense oligonucleotides described in D1 are directed against a nucleic acid coding for tenascin and above all against the translation initiation site (SEQ ID NO 2 family).
- 2.2 The subject matter of Claim 1 therefore differs from the known oligonucleotides in comprising a smaller number of nucleotides.
- 2.3 The technical problem addressed by the present invention may be seen to consist in preparing novel antisense oligonucleotides that are directed against human tenascin and

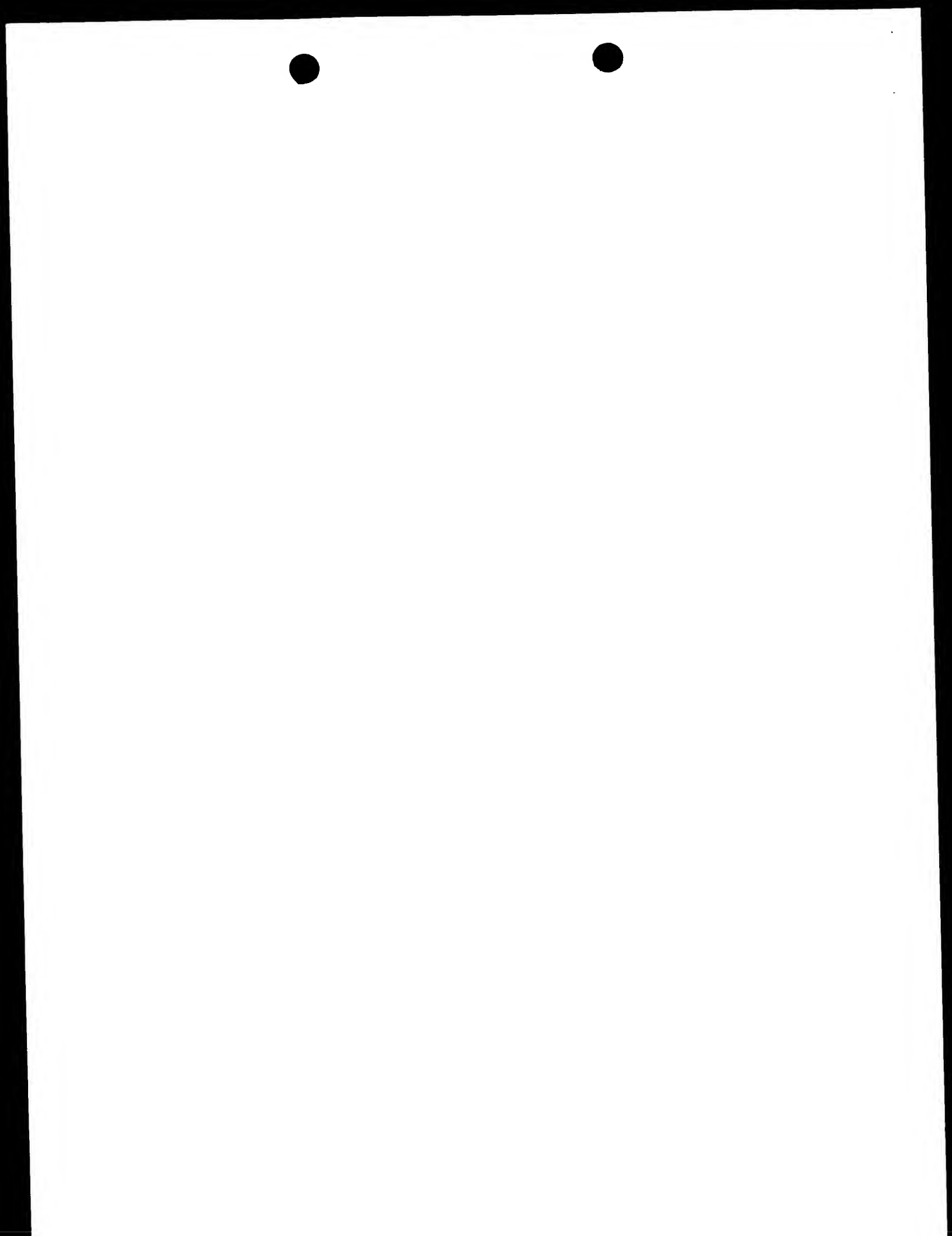


exhibit advantageous properties.

2.4

The solution proposed in Claim 1 of the present application cannot be considered to involve an inventive step (PCT Article 33(3)) for the following reasons:

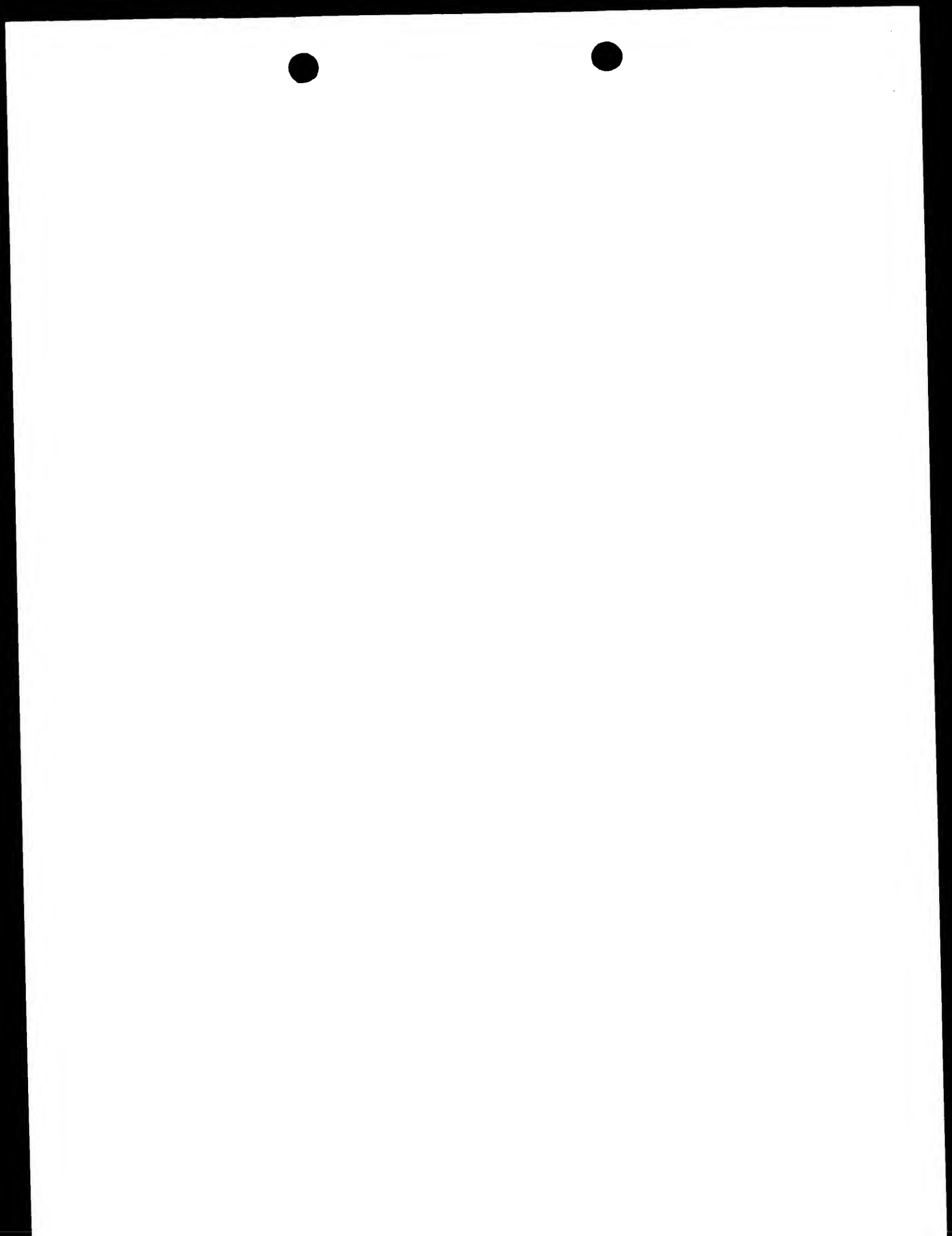
D2 describes the specificity of antisense oligonucleotides depending on their length. The shortest specific minimum sequence comprises 13 base pairs, although even oligonucleotides of only 10 base pairs in length demonstrate antisense effects (see page 7306). In general, however, there appears to be no simple correlation between the length of an oligonucleotide and its effectiveness (see page 7308).

Consequently, the concept of producing increased specificity and/or antisense effects by modifying the number of nucleotides in oligonucleotides is known from the prior art.

Moreover, the examples given in the present application fail to demonstrate an advantageous effect, whether of a similar or a different nature, produced by the claimed oligonucleotides, and there are no comparative examples confirming that the choice of shorter antisense oligonucleotides in fact produces an unexpected effect compared with the oligonucleotides known from D1.

2.5

Therefore, the subject matter of Claim 1 fails to meet the requirements of PCT Article 33(3).



Claims 2-7, which are dependent on Claim 1 and pertain to modified oligonucleotides or oligonucleotides directed against specific regions of tenascin, likewise fail to meet the requirements of PCT Article 33(3), since all the additional properties of these claims were disclosed by D1.

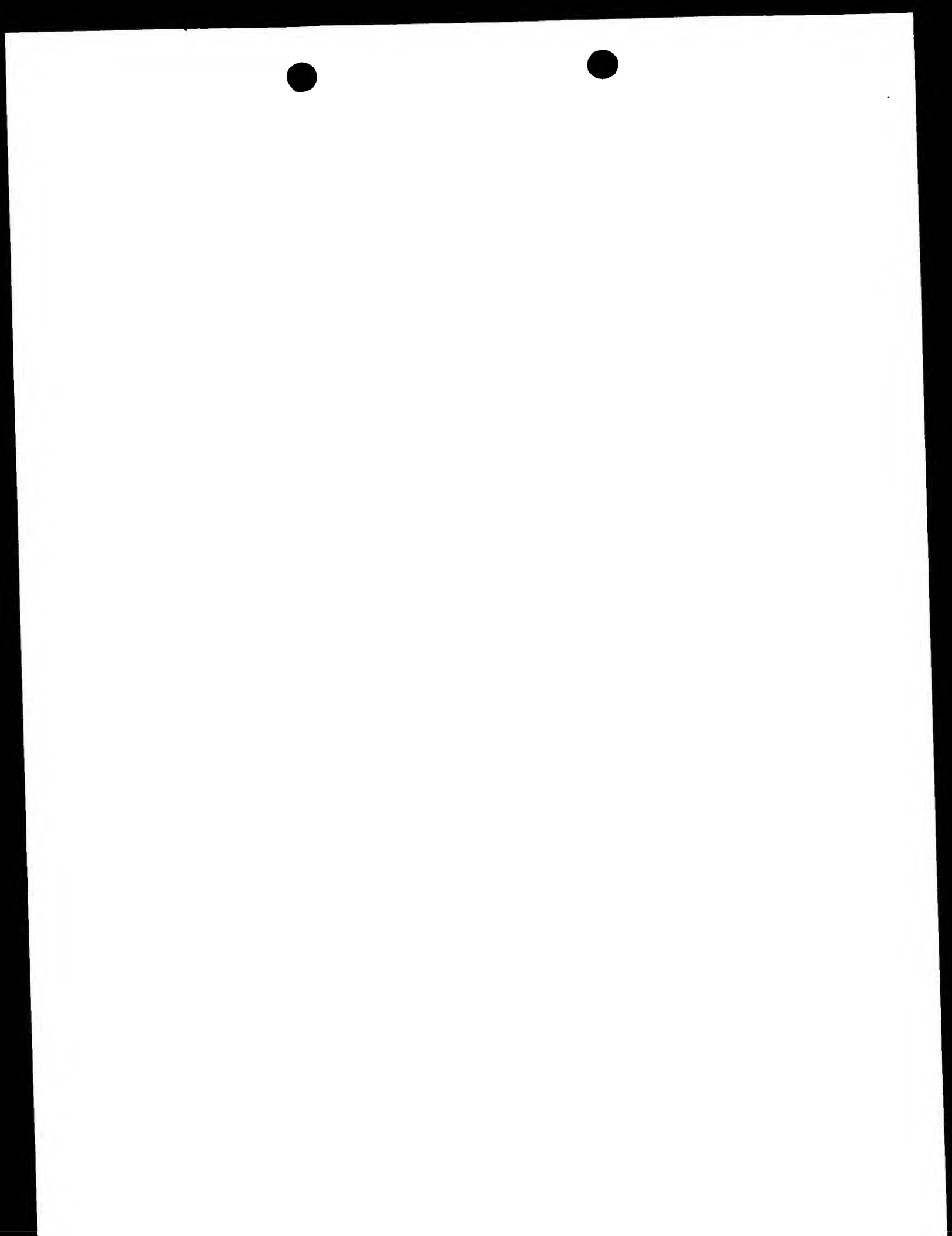
For the same reason the subject matter of Claims 13-18 (various possible uses of the said oligonucleotides) and 20-21 (process for the preparation of a drug or of the said oligonucleotides) can also not be acknowledged to involve an inventive step.

2.6

The characterizing features of Claims 8-12, which are not known from the previously indicated citations, appear to represent nothing more than further, obvious modifications of the said oligonucleotides amounting to routine steps that would generally be taken by a person skilled in the art.

Moreover, the features of dependent Claims 8-12 have already been used for the same purpose in similar oligonucleotides: cf. D3 (all the modifications proposed in the claims are discussed in detail) and/or D4 (which describes the advantage of non-uniformly or terminally modified nucleotides).

Use of these modifications in oligonucleotides as per D1 to like effect, thereby obtaining oligonucleotides as per Claim 8-12, would therefore be obvious to a person skilled in the art.



Consequently, the subject matter of Claims 8-12 should not involve an inventive step as per the requirements of PCT Article 33(3).

The subject matter of Claims 19, 22 and 23 cannot be acknowledged to involve an inventive step either.

The features of these claims (use of the drug, diagnostic agent, test kit) comprise only some of a plurality of obvious possibilities for the application and/or exploitation of these oligonucleotides, from which a person skilled in the art would select as appropriate without inventive input in order to solve the set problem.

3. Industrial Applicability (PCT Article 33(4))

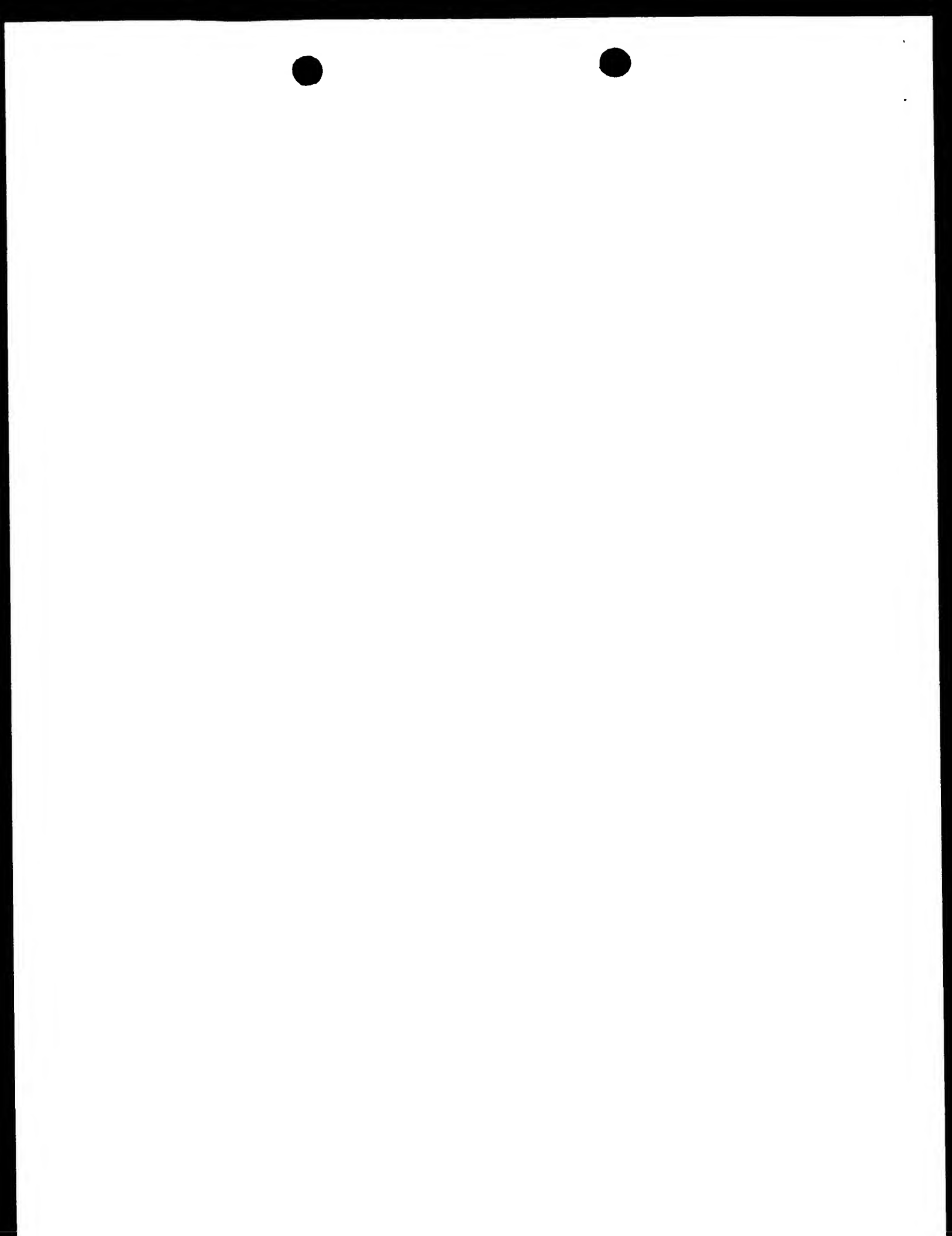
- 3.1 Claims 13-15 and 19 pertain to subject matter that, in the opinion of this authority, falls under PCT Rule 67.1(iv). Therefore, no report will be established as to the industrial applicability of the subject matter of these claims (PCT Article 34(4)(a)(i)).



VIII. Certain observations on the international application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

1. Clarity (PCT Article 6)
 - 1.1 Claims 1-23 are not, as stipulated in PCT Article 6, supported by the description, since their scope goes beyond that justified by the description and the examples. The reasons for this are as follows: the claims pertain to oligonucleotides that can bind to tenascin and inhibit expression thereof (see Claim 1 and, in particular, all the proposed modified oligonucleotides claimed in Claims 4-12). The subject matter of Claims 13-23 pertains to the use of the said oligonucleotides, *inter alia* for the purpose of inhibiting the expression of tenascin. Such effects or possible uses are purely speculative, since the present application contains no documentation confirming that the said oligonucleotides are capable of producing the claimed effects at all or even exhibit improved activity compared with the known antisense oligonucleotides.
 - 1.2 Consequently, the claims are not permissible according to PCT Article 6.
This objection may only be removed by limiting the scope of protection to those oligonucleotides that can be demonstrated to have the claimed, essential properties. The consequent scope of protection would correspond to a just reward for the present



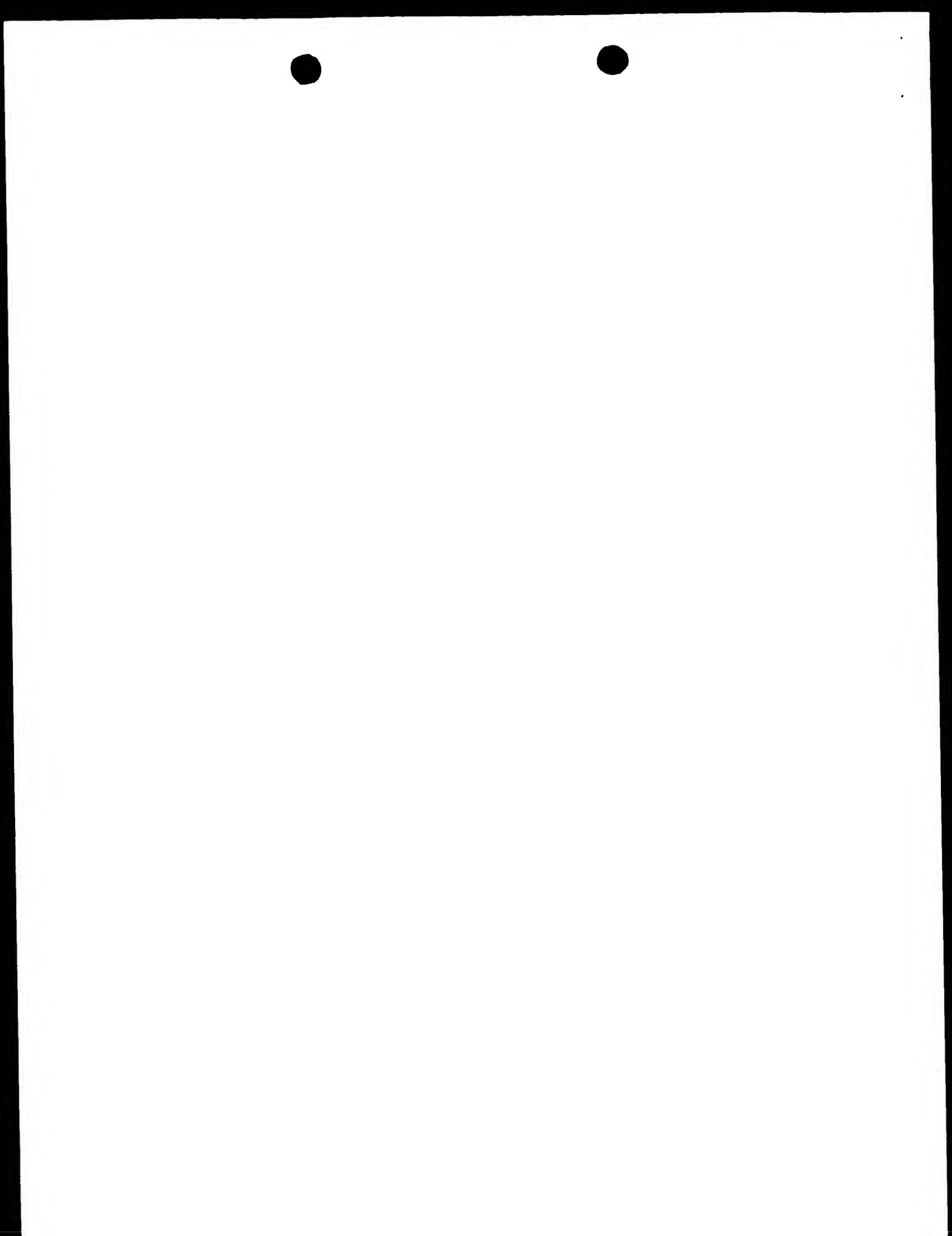
INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EF 98/06863

VIII. Certain observations on the international application

application (PCT International Preliminary Examination Guidelines, Chapter III, 6.2).



VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

(Artikel 36 und Regel 70 PCT)

REC'D 24 FEB 2000



WIPO PCT

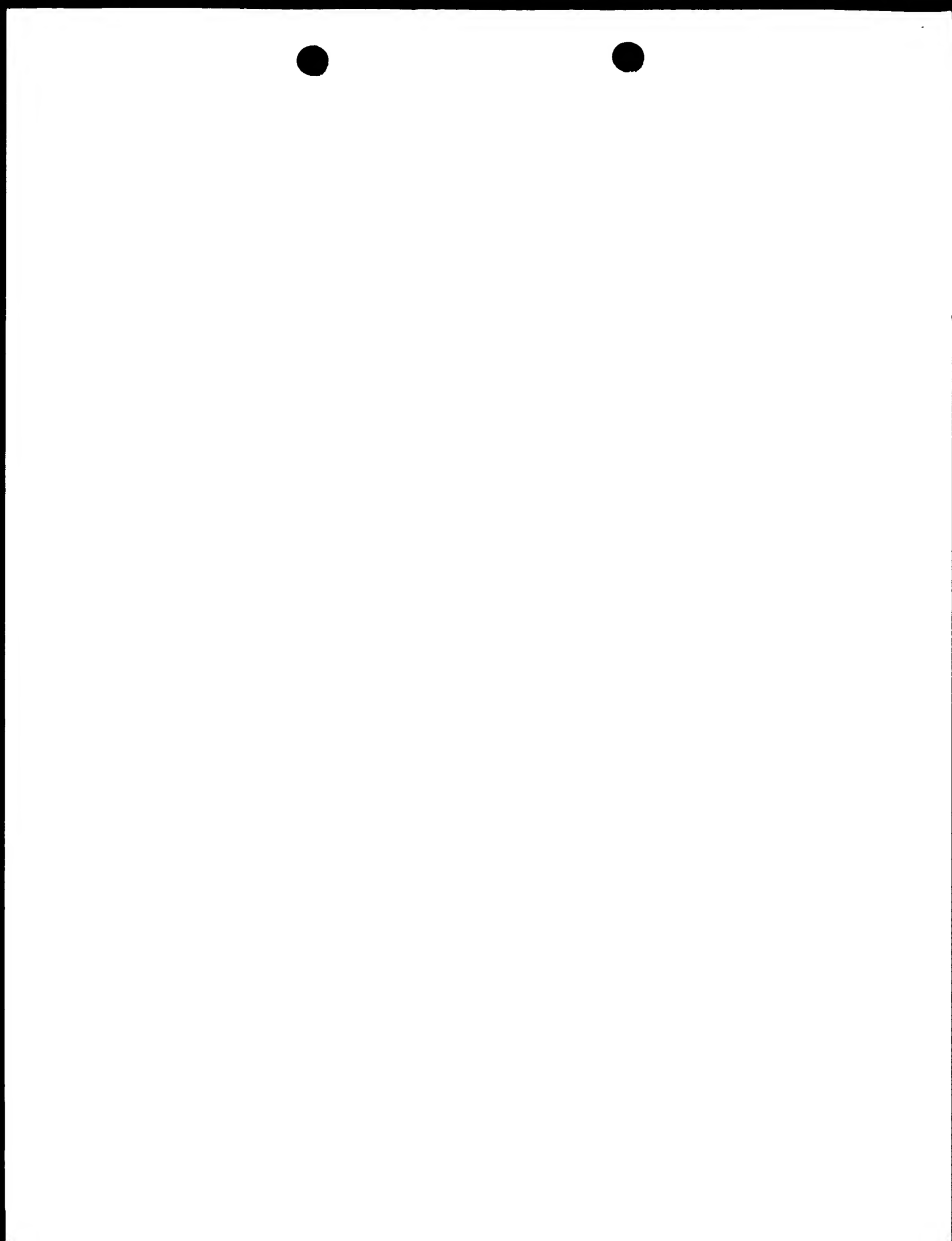
Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts 1997/L238	WEITERES VORGEHEN siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsbericht (Formblatt PCT IPEA 416)	
Internationales Aktenzeichen PCT/EP98/06868	Internationales Anmeldedatum (Tag Monat Jahr) 29/10/1998	Prioritätsdatum (Tag Monat Jahr) 15/11/1997
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK C12N15/11		
Anmelder AVENTIS PHARMA DEUTSCHLAND GMBH et al.		

- Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationale vorläufigen Prüfung beauftragte Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.
- Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 7 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.
 - ☐ Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).

Diese Anlagen umfassen insgesamt Blätter.

- Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten
 - I ☒ Grundlage des Berichts
 - II ☐ Priorität
 - III ☐ Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
 - IV ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
 - V ☒ Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderische Tätigkeit und der gewerbliche Anwendbarkeit, Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
 - VI ☐ Bestimmte angeführte Unterlagen
 - VII ☐ Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
 - VIII ☒ Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Datum der Einreichung des Antrags 11.06.1999	Datum der Fertigstellung dieses Berichts 21.02.00
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde  Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2339-10, Tx. 523656 edm d Fax +49 89 2339-4485	Bevollmächtigter Bediensteter Novak, S  Tel. Nr. +49 89 2339 9930



INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT

Internationales Aktenzeichen PCT/EP98/06868

I. Grundlage des Berichts

1. Dieser Bericht wurde erstellt auf der Grundlage (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigefügt, weil sie keine Änderungen enthalten.*):

Beschreibung, Seiten:

1-28 ursprüngliche Fassung

Patentansprüche, Nr.:

1-23 ursprüngliche Fassung

Zeichnungen, Blätter:

1/20-20/20 ursprüngliche Fassung

2. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:

- ☐ Beschreibung, Seiten:
☐ Ansprüche, Nr.:
☐ Zeichnungen, Blatt:

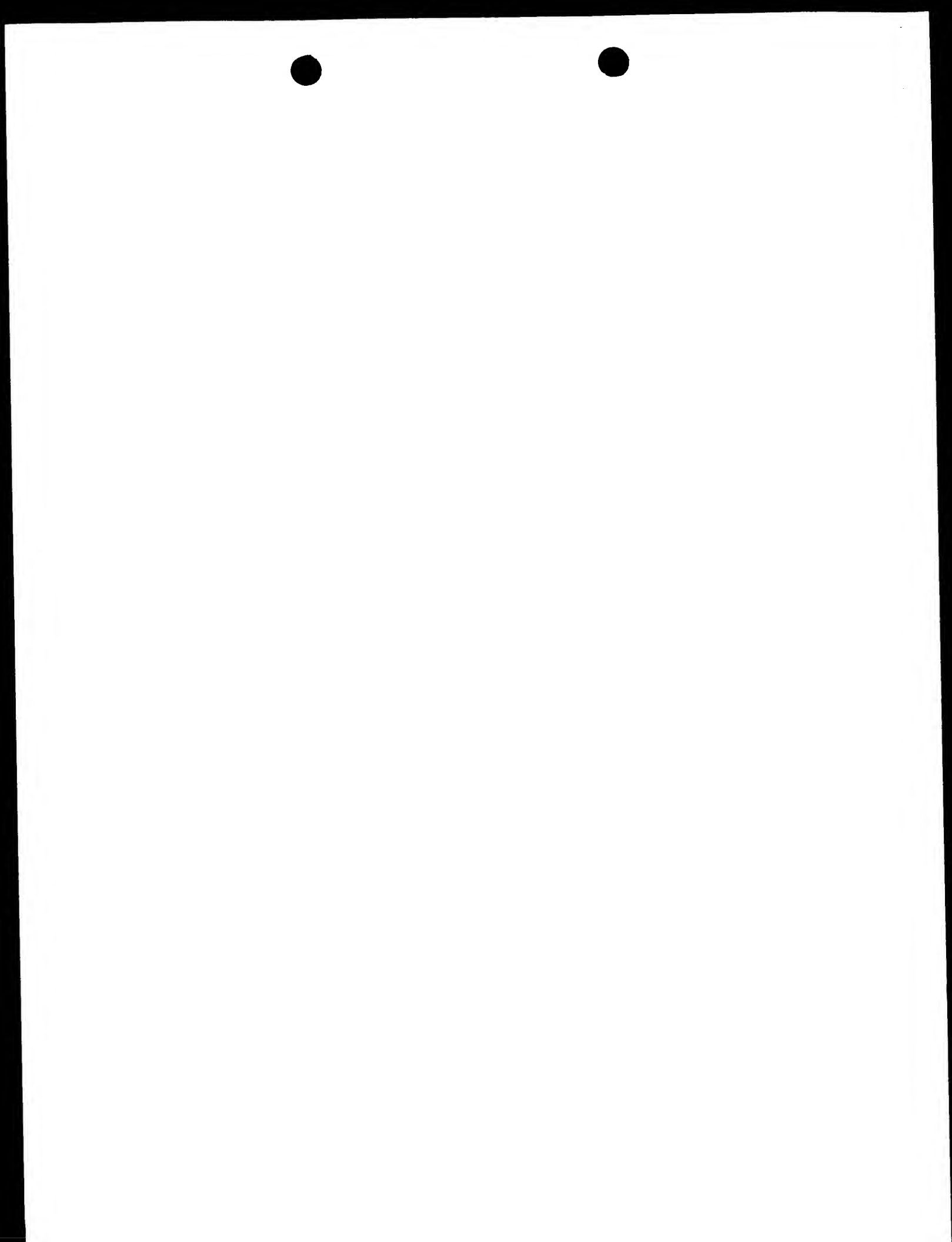
3. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)):

4. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit: Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung

1. Feststellung

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche	1 - 23
	Nein: Ansprüche	
Erfinderische Tätigkeit (ET)	Ja: Ansprüche	13 - 18, 20, 21
	Nein: Ansprüche	1 - 12, 19, 22, 23
Gewerbliche Anwendbarkeit (GA)	Ja: Ansprüche	1 - 12, 16 - 18, 20 - 23
	Nein: Ansprüche	13 - 15, 19



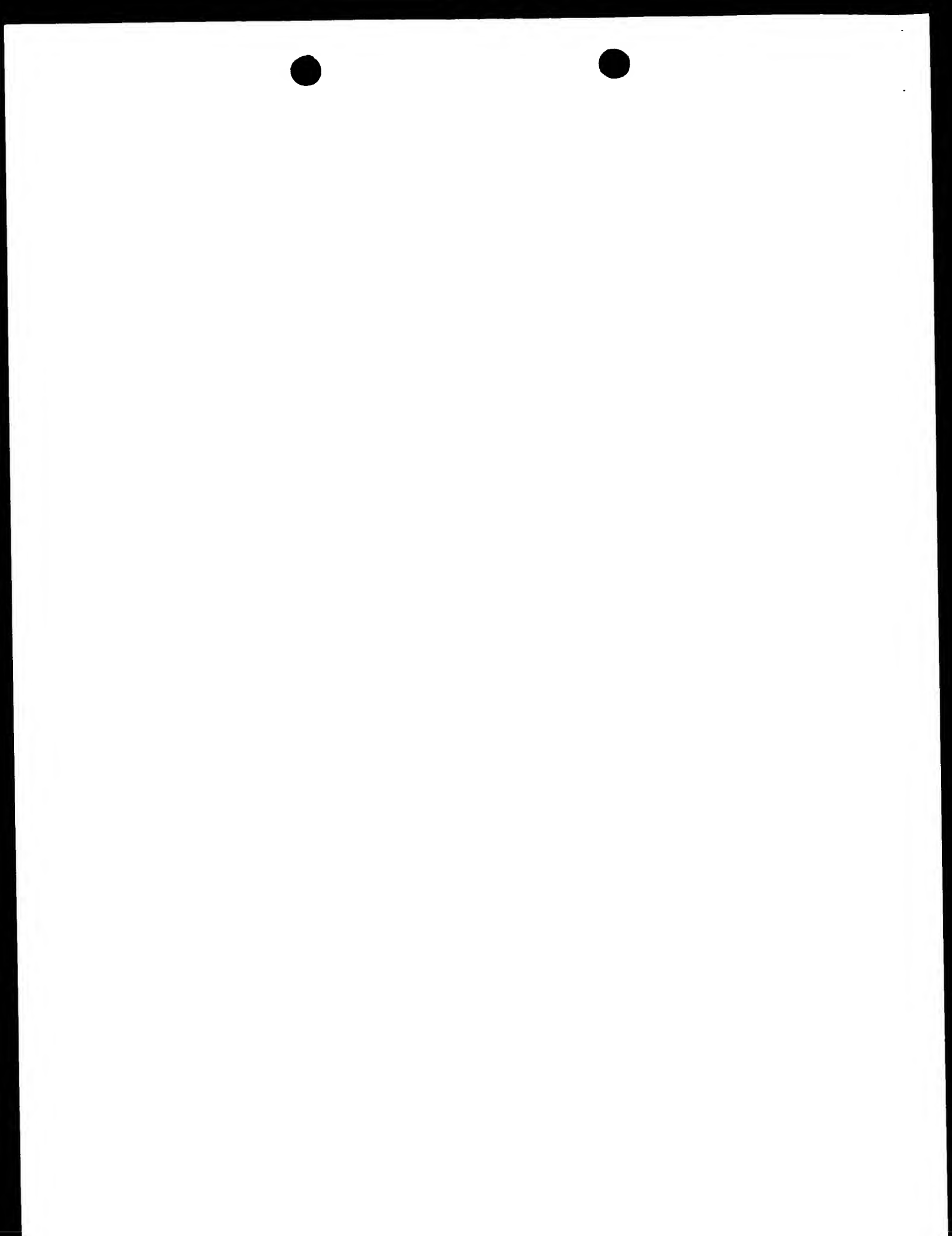
2. Unterlagen und Erklärungen

siehe Beiblatt

VIII. Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Zur Klarheit der Patentansprüche, der Beschreibung und der Zeichnungen oder zu der Frage, ob die Ansprüche in vollem Umfang durch die Beschreibung gestützt werden, ist folgendes zu bemerken:

siehe Beiblatt



Es wird auf die folgenden Dokumente verwiesen:

- D1: WO 94 21664 A 29. September 1994
- D2: WOOLF T M ET AL: P.N.A.S., Bd. 89. 1. August 1992, Seiten 7305-7309
- D3: DE 195 02 912 A 1. August 1996
- D4: PEYMAN A ET AL: BIOLOGICAL CHEMISTRY HOPPE-SEYLER, Bd. 377, Nr. 1, Januar 1996, Seiten 67-70

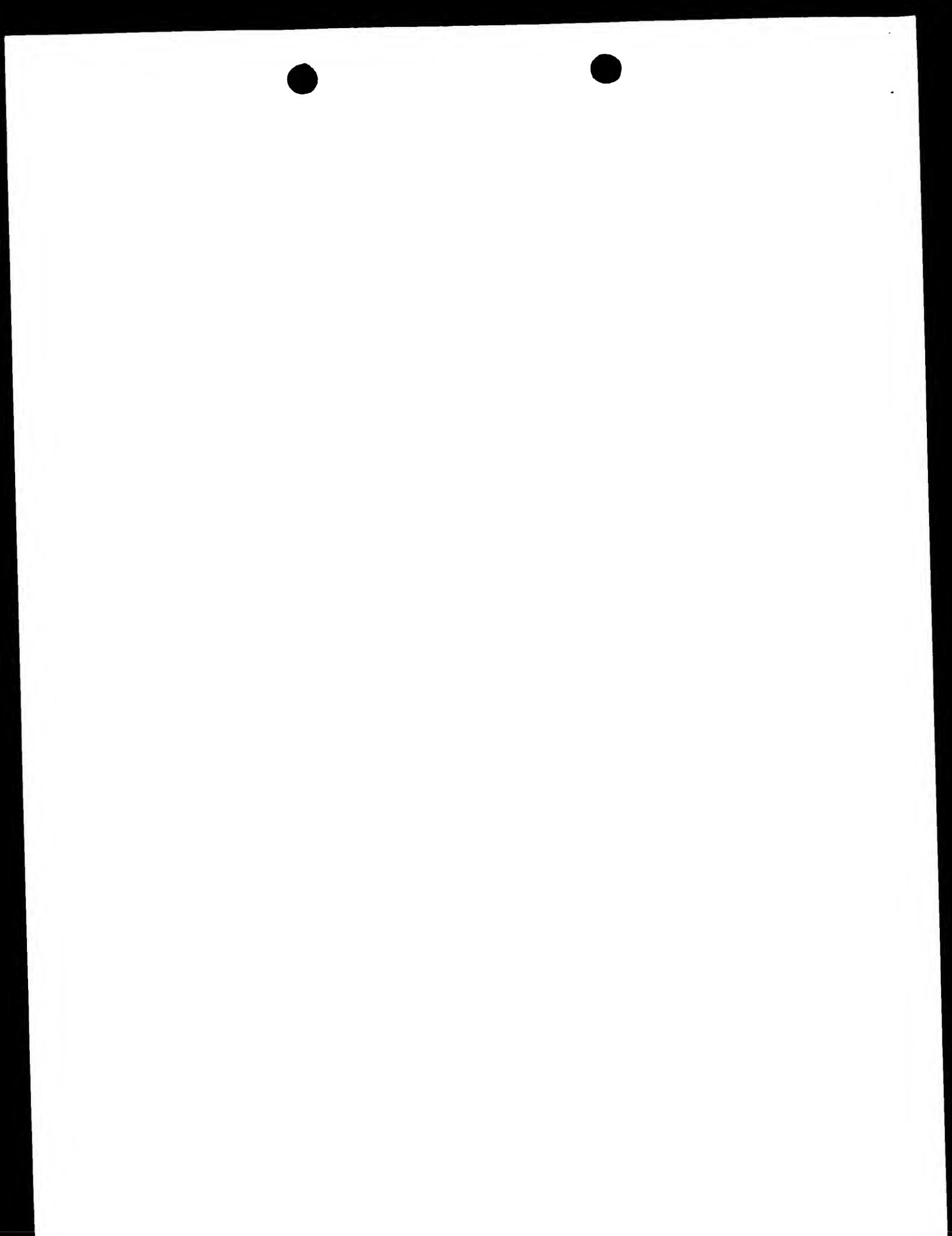
ad V.

1. Neuheit (Artikel 33(2) PCT)

- 1.1. Die gegenwärtige Anmeldung betrifft Oligonukleotide, mit einer Länge von 7 bis 15 Nukleotideinheiten, die an eine Nukleinsäure, die für eine der Isoformen humanen Tenascins oder Teile derselben kodiert, bindet, und deren Expression inhibiert. Diese Oligonukleotide können gegebenenfalls modifiziert sein. Weitere Ansprüche betreffen die Herstellung, sowie Verwendung besagter Oligonukleotide, unter anderem zur spezifischen Inhibition der Expression von Tenascin, oder zur Herstellung von Arzneimitteln.
- 1.2. Derartige Oligonukleotide sind vom Stand der Technik nicht bekannt. Folglich erfüllt der Gegenstand von Anspruch 1 die Erfordernisse von Artikel 33(2) PCT. Dasselbe gilt für die davon abhängigen Patenansprüche 2 bis 12, und Ansprüche 13 bis 23.

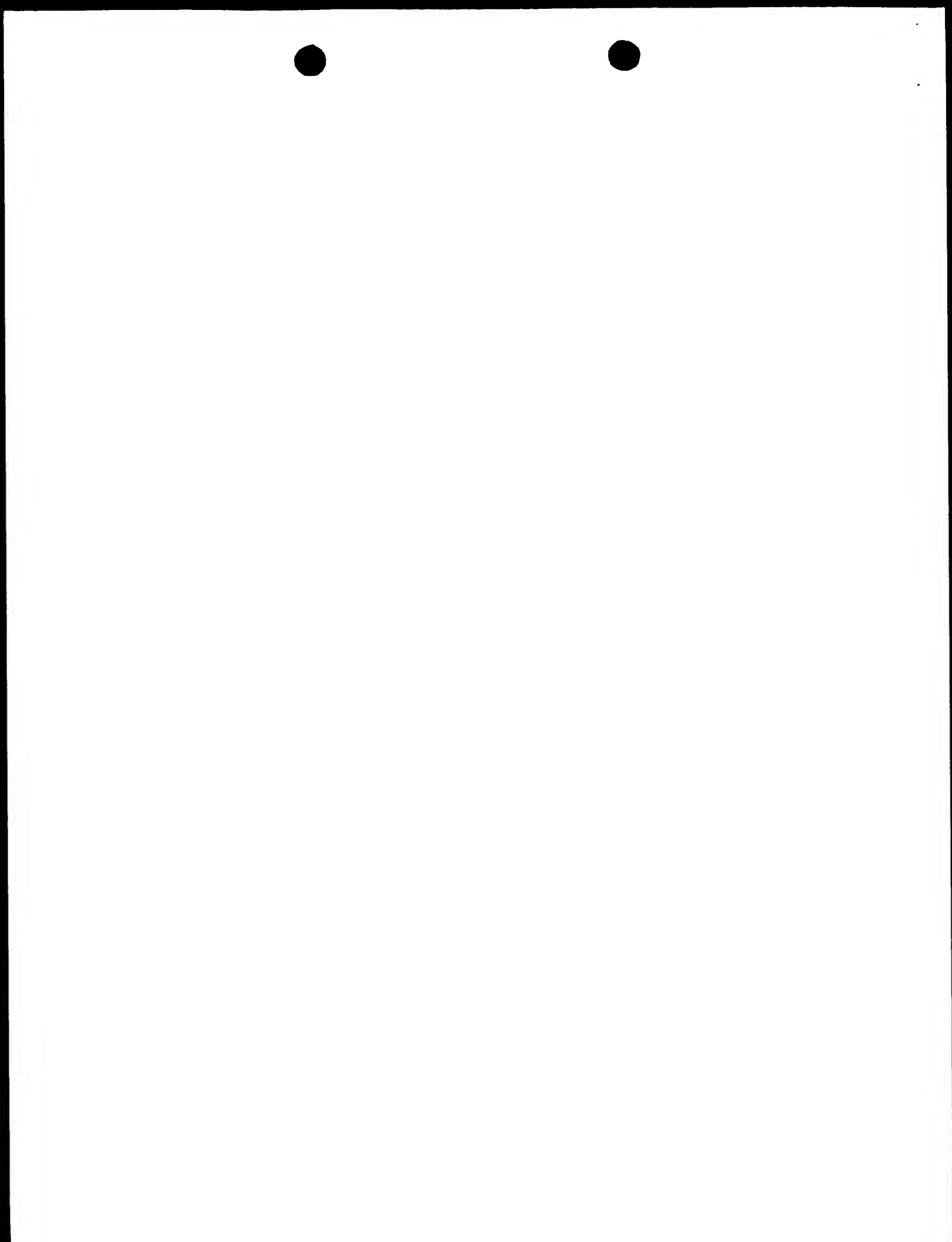
2. Erfinderische Tätigkeit (Artikel 33(3) PCT)

- 2.1. Das Dokument D1 wird als nächstliegender Stand der Technik gegenüber der gegenwärtigen Anmeldung angesehen.
Es offenbart: Antisense-Oligonukleotide, die an das humane Tenascin-Gen hybridisieren, mit einer Länge von weniger als 50 Nukleotideinheiten, wobei Oligonukleotide mit weniger als 20 Nukleotideinheiten besonders bevorzugt sind (siehe Seite 3). Die Basenpaare besagter Oligonukleotide sind durch



Pseudophosphatbrücken (z.B. Phosphorothioat-Brücken) miteinander verknüpft, die erhöhte Resistenz gegen Nucleaseverdau aufweisen (siehe Seite 4). Die Antisense-Oligonukleotide von D1 sind gegen eine für Tenascin kodierende Nukleinsäure gerichtet, vor allem gegen den Translationsstart (SEQ. I.D. - 2 Familie).

- 2.2. Der Gegenstand des Anspruchs 1 unterscheidet sich daher von den bekannten Oligonukleotiden durch die geringere Anzahl der Nukleotideinheiten.
- 2.3. Die mit der vorliegenden Erfindung zu lösende Aufgabe kann somit darin gesehen werden, neue Antisense-Oligonukleotide, die gegen humanes Tenascin gerichtet sind, und vorteilhafte Eigenschaften aufweisen, herzustellen.
- 2.4. Die in Anspruch 1 der vorliegenden Anmeldung vorgeschlagene Lösung kann aus folgenden Gründen nicht als erfinderisch betrachtet werden (Artikel 33(3) PCT):
D2 beschreibt die Spezifität von Antisense-Oligonukleotiden in Abhängigkeit von deren Länge. Die kürzeste spezifische Minimalsequenz umfaßt 13 Basenpaare, obwohl auch Oligonukleotide mit einer Länge von nur 10 Basenpaaren antisense-Effekte zeigen (siehe Seite 7306). Generell scheint allerdings keine einfache Korrelation zwischen der Länge eines Oligonukleotids und dessen Effektivität vorzuliegen (siehe Seite 7308).
Daraus folgt, daß die Idee, durch Variation der Anzahl der Nukleotideinheiten von Oligonukleotiden erhöhte Spezifität und/oder Antisense-Effekte zu bewirken, vom Stand der Technik bekannt war.
Darüber hinaus wird in den Beispielen der gegenwärtigen Anmeldung keinerlei derartiger, noch anders gearteter, vorteilhafter Effekt der beanspruchten Oligonukleotide nachgewiesen, bzw. es fehlen vergleichende Beispiele, die beweisen, daß die Wahl kürzerer Antisense-Oligonukleotide tatsächlich einen überraschenden Effekt gegenüber den bereits aus D1 bekannten Oligonukleotiden bewirken.
- 2.5. Somit erfüllt der Gegenstand von Anspruch 1 nicht die Erfordernisse von Artikel 33(3) PCT.
Dasselbe gilt für die davon abhängigen Ansprüche 2 bis 7, die sich mit modifizierten Oligonukleotiden, bzw. Oligonukleotiden, die gegen bestimmte



Regionen von Tenascin gerichtet sind, befassen, da alle zusätzlichen Eigenschaften dieser Ansprüche aus D1 bekannt waren.

Erfinderische Tätigkeit wird aus demselben Grund auch nicht für den Gegenstand von Ansprüchen 13 bis 18 (verschiedene Verwendungsmöglichkeiten besagter Oligonukleotide), und 20 bis 21 (Verfahren zur Herstellung eines Arzneimittels, bzw. besagter Oligonukleotide) anerkannt.

- 2.6. Die nicht aus den zuvor genannten Dokumenten bekannten kennzeichnenden Merkmale der Ansprüche 8 bis 12 stellen offenbar nur weitere, offensichtliche Modifikationen besagter Oligonukleotide dar, die den allgemein üblichen Maßnahmen des Fachmanns entsprechen.

Darüber hinaus wurden die Merkmale der abhängigen Ansprüche 8 bis 12 schon für denselben Zweck bei ähnlichen Oligonukleotiden benutzt, vgl. dazu Dokument D3 (alle in den Ansprüchen vorgeschlagenen Modifikationen sind ausführlich erläutert) und/oder D4 (beschreibt den Vorteil uneinheitlich, bzw. endständig modifizierter Nukleotideinheiten).

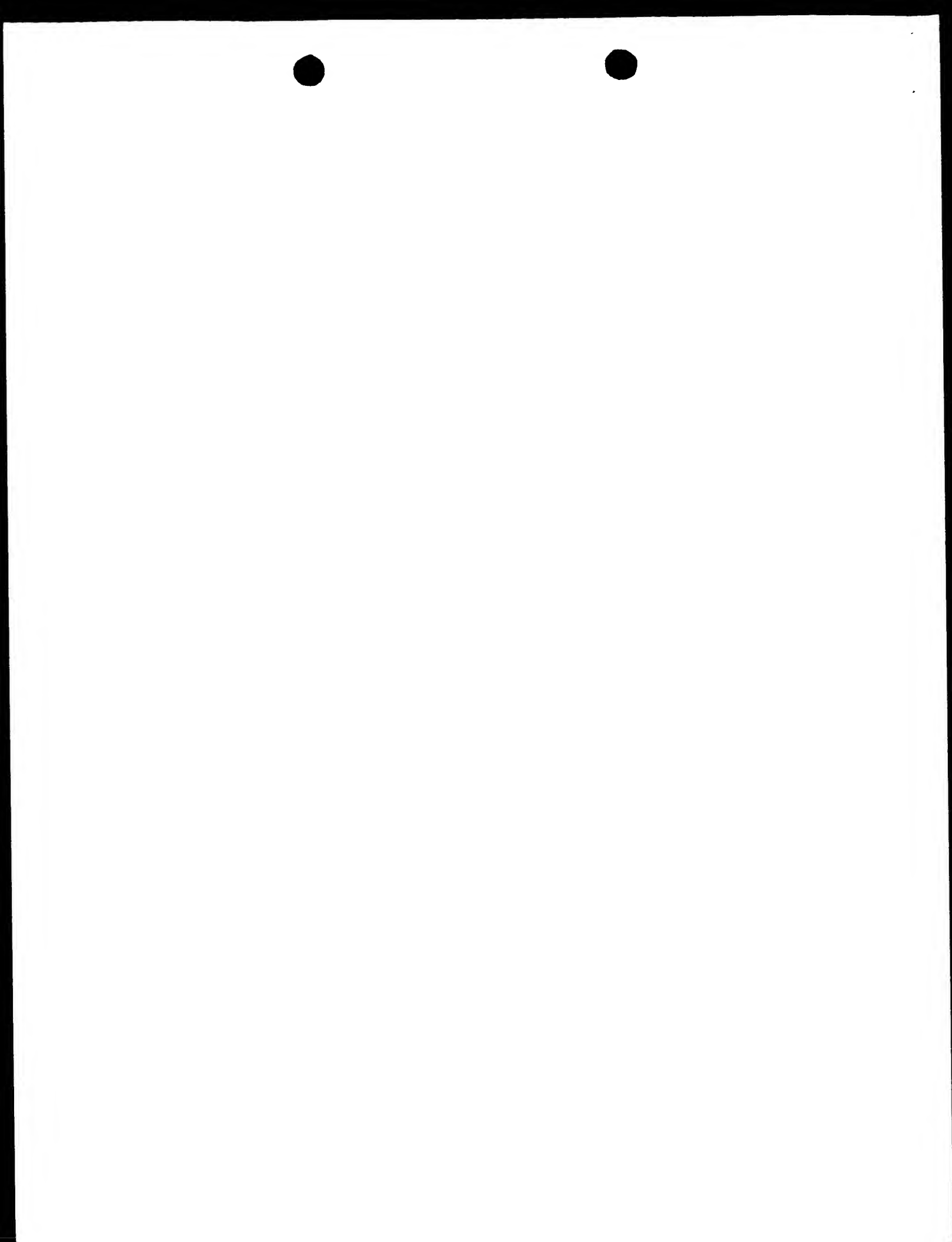
Für den Fachmann war es daher naheliegend, diese Modifikationen auch bei Oligonukleotiden gemäß Dokument D1 mit entsprechender Wirkung anzuwenden, und auf diese Weise zu Oligonukleotiden gemäß den Ansprüchen 8 bis 12 zu gelangen.

Folglich dürfte der Gegenstand der Ansprüche 8 bis 12 nicht auf einer erfinderischen Tätigkeit gemäß den Erfordernissen des Artikels 33(3) PCT beruhen.

Erfinderische Tätigkeit kann auch nicht für den Gegenstand der Ansprüche 19, und 22 bis 23 anerkannt werden.

Bei den Merkmalen (Verwendung des Arzneimittels, Diagnostikum, Testkit) dieser Ansprüche handelt es sich nur um eine von mehreren, naheliegenden Möglichkeiten zur Verwendung und/oder Nutzung dieser Oligonukleotide, aus denen der Fachmann ohne erfinderisches Zutun den Umständen entsprechend auswählen würde, um die gestellte Aufgabe zu lösen.

3. Gewerbliche Anwendbarkeit (Article 33(4) PCT)



3.1. Die Ansprüche 13 - 15 und 19 beziehen sich auf einen Gegenstand, der nach Auffassung dieser Behörde unter die Regel 67.1 (iv) PCT fällt. Daher wird über die gewerbliche Anwendbarkeit des Gegenstands dieser Ansprüche kein Gutachten erstellt (Artikel 34 4) (a) (i) PCT).

ad VIII.

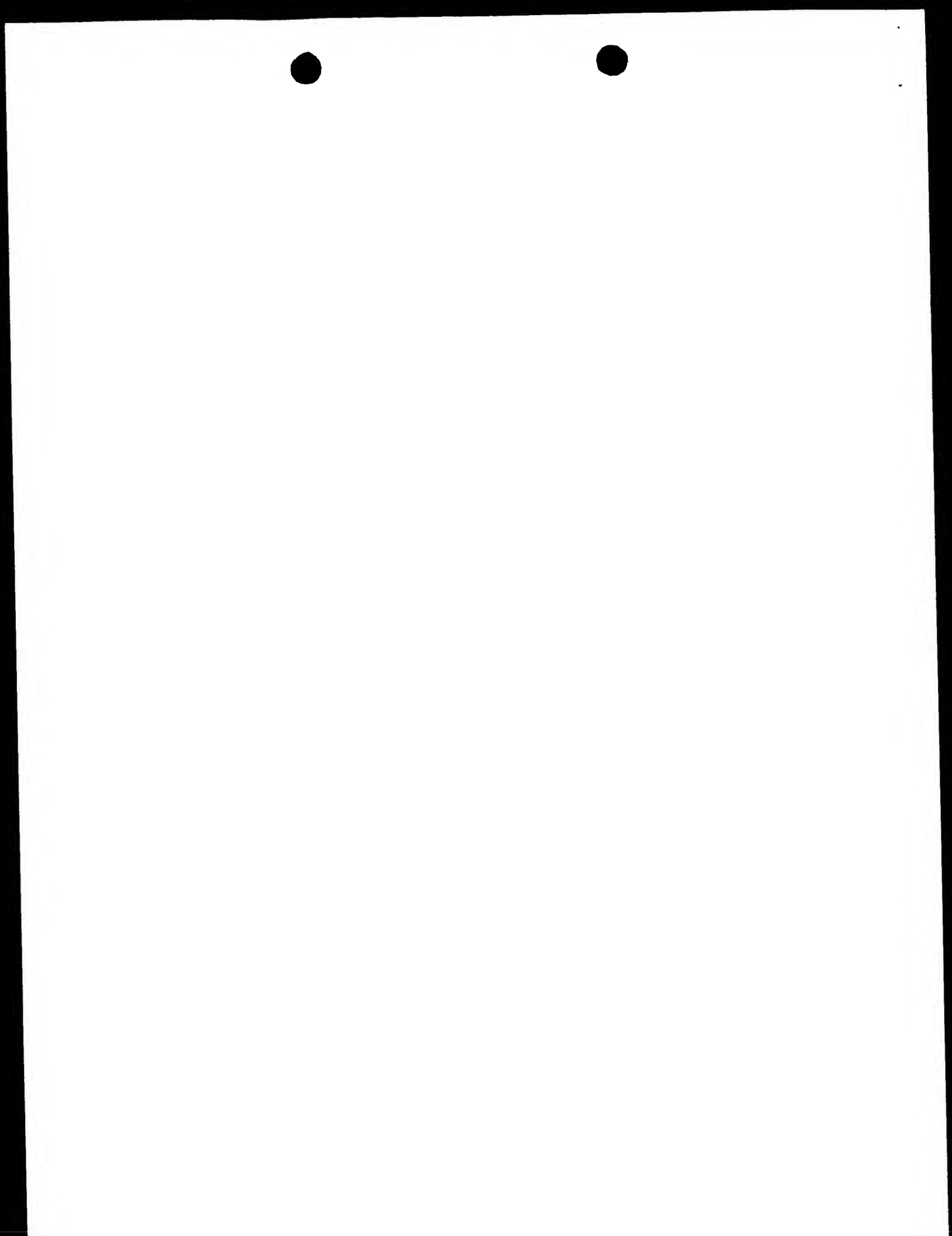
4. Klarheit (Artikel 6 PCT)

4.1. Die Ansprüche 1 bis 23 werden nicht, wie in Artikel 6 PCT vorgeschrieben, durch die Beschreibung gestützt, da ihr Umfang über den durch die Beschreibung und Beispiele gerechtfertigten Umfang hinausgeht. Die Gründe dafür sind die folgenden: die Ansprüche sind auf Oligonukleotide bezogen, die Tenascin binden können, und dessen Expression inhibieren (siehe Anspruch 1). Dies gilt insbesondere auch für alle in der Anmeldung vorgeschlagenen modifizierte, beanspruchte Oligonukleotide (Ansprüche 4 bis 12). Der Gegenstand von Anspruch 13 bis 23 befaßt sich mit der Verwendung besagter Oligonukleotide, u.a. zur Inhibition der Expression von Tenascin.

Derartige Effekte bzw. Verwendungsmöglichkeiten sind rein spekulativ, da die gegenwärtige Anmeldung in keiner Weise dokumentiert, daß besagte Oligonukleotide überhaupt in der Lage sind, beanspruchte Wirkungen zu erfüllen, oder auch eine, im Vergleich zu den bekannten Antisense-Oligonukleotiden, verbesserte Wirkung zu zeigen.

4.2. Folglich sind die Ansprüche nach Artikel 6 PCT nicht erlaubbar.

Diesem Einwand kann nur dadurch begegnet werden, den Schutzbereich auf jene Oligonukleotide zu beschränken, für die nachgewiesen werden kann, daß sie beanspruchte, wesentliche Eigenschaften aufweisen. Der daraus folgende Schutzbereich entspricht einer gerechten Entlohnung für die gegenwärtige Anmeldung (Richtlinien, C-III, 6.2).



PCTWELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales BüroINTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation ⁶ : C12N 15/11, A61K 31/70, C07H 21/00, C12Q 1/68		A3	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 99/25819 (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 27. Mai 1999 (27.05.99)
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT EP98-06868 (22) Internationales Anmeldedatum: 29. Oktober 1998 (29.10.98) (30) Prioritätsdaten: 197 50 702.6 15. November 1997 (15.11.97) DE (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): HOECHST MARION ROUSSEL DEUTSCHLAND GMBH [DE/DE]; Brüningstrasse 50, D-65929 Frankfurt am Main (DE). (72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): PEYMAN, Anuschirwan [DE/DE]; Zeilsheimer Strasse 46, D-65779 Kelkheim (DE). UHLMANN, Eugen [DE/DE]; Zum Talblick 31, D-61479 Glashütten (DE). WEISER, Caroline [DE/DE]; Karl-Staib-Strasse 37, D-65795 Hattersheim (DE). (74) Gemeinsamer Vertreter: HOECHST MARION ROUSSEL DEUTSCHLAND GMBH; Patent- und Lizenzabteilung, Gebäude K 801, D-65926 Frankfurt am Main (DE).		(81) Bestimmungsstaaten: AL, AU, BA, BB, BG, BR, CA, CN, CU, CZ, EE, GE, HR, HU, ID, IL, IS, JP, KR, LC, LK, LR, LT, LV, MG, MK, MN, MX, NO, NZ, PL, RO, RU, SG, SI, SK, SL, TR, TT, UA, US, UZ, VN, YU, ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG). Veröffentlicht <i>Mit internationalem Recherchenbericht.</i> <i>Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen</i> <i>Frist Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen</i> <i>eintreffen.</i> (88) Veröffentlichungsdatum des internationalen Recherchenbe- richts: 10. September 1999 (10.09.99)	
(54) Title: ANTISENSE OLIGONUCLEOTIDES AGAINST TENASCIN FOR TREATING VITILIGO (54) Bezeichnung: ANTISENSE OLIGONUKLEOTIDE GEGEN TENASCIN ZUR BEHANDLUNG VON VITILIGO (57) Abstract The invention relates to specific, optionally modified oligonucleotides with a length of up to 18 nucleotides. Said oligonucleotides correspond to segments of tenascin-coding sequences or can bind to these sequences. The invention also relates to the production and use of the oligonucleotides, for example for the specific inhibition of the expression of tenascin and for producing medicaments used to treat vitiligo. (57) Zusammenfassung Die Erfindung betrifft spezifische, gegebenenfalls modifizierte Oligonukleotide mit einer Länge von bis zu 18 Nukleotiden, die Abschnitten Tenascin-kodierender Sequenzen entsprechen bzw. die an diese Sequenzen binden können, deren Herstellung sowie die Verwendung derselben, beispielsweise zur spezifischen Inhibition der Expression von Tenascin und zur Herstellung von Arzneimitteln, die zur Behandlung von Vitiligo verwendet werden können.			

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidshon	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	ML	Mali	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	MN	Mongolei	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MR	Mauretanien	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MX	Mexiko	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CG	Kongo	KE	Kenia	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	PL	Polen		
CM	Kamerun	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CU	Kuba	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
CZ	Tschechische Republik	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DE	Deutschland	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
DK	Dänemark	LR	Liberia	SG	Singapur		
EE	Estland						

PCT/EP 98/06868

IPC 6 C12N15/11 A61K31/70 C07H21/00 C12Q1/68

According to International Patent Classification (IPC) for technological classification and PC

Minimum documentation searched: classification system followed by classification symbols

IPC 6 C12N A61K C07H C12O

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched.

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and where practical search terms used)

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
----------	--	-----------------------

X	WO 94 21664 A (TEXAS BIOTECHNOLOGY CORP ;DENNER LARRY A (US); REGE AJAY A (US); D) 29 September 1994 (1994-09-29) cited in the application page 3. line 15 - line 26 page 4. line 23 - page 5. line 17 page 10. line 10 - page 11. line 12 page 17. line 9 - page 23. line 2 claims	1-8.13. 16-18. 20.21
Y	---	4-12. 14-16. 20-23
Y	DE 195 02 912 A (HOECHST AG) 1 August 1996 (1996-08-01) the whole document ---	4-12. 14-16. 20-23
	--- -/--	

☒ Further documents are listed in the continuation of box C

☒ Patent family members are listed in annex

Special categories of cited documents

- A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- E: earlier document but published on or after the international filing date
- L: document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason, as specified
- O: document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- P: document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- X document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- Y document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- S document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

Date of mailing of the international search report

5 July 1999

20/07/1999

Name and mailing address of the SA
European Patent Office, P.O. Box 1, Patentlaan 1
NL-2000 CA Haarlem, The Netherlands
Tel. (+31-70) 3402040, Telex 31451 eppo nl
Fax (+31-70) 3403116

1998, 1999, 2000, 2001, 2002, 2003, 2004, 2005, 2006, 2007, 2008, 2009, 2010, 2011, 2012, 2013, 2014, 2015, 2016, 2017, 2018, 2019, 2020, 2021, 2022, 2023, 2024, 2025, 2026, 2027, 2028, 2029, 2030, 2031, 2032, 2033, 2034, 2035, 2036, 2037, 2038, 2039, 2040, 2041, 2042, 2043, 2044, 2045, 2046, 2047, 2048, 2049, 2050, 2051, 2052, 2053, 2054, 2055, 2056, 2057, 2058, 2059, 2060, 2061, 2062, 2063, 2064, 2065, 2066, 2067, 2068, 2069, 2070, 2071, 2072, 2073, 2074, 2075, 2076, 2077, 2078, 2079, 2080, 2081, 2082, 2083, 2084, 2085, 2086, 2087, 2088, 2089, 2090, 2091, 2092, 2093, 2094, 2095, 2096, 2097, 2098, 2099, 2100, 2101, 2102, 2103, 2104, 2105, 2106, 2107, 2108, 2109, 2110, 2111, 2112, 2113, 2114, 2115, 2116, 2117, 2118, 2119, 2120, 2121, 2122, 2123, 2124, 2125, 2126, 2127, 2128, 2129, 2130, 2131, 2132, 2133, 2134, 2135, 2136, 2137, 2138, 2139, 2140, 2141, 2142, 2143, 2144, 2145, 2146, 2147, 2148, 2149, 2150, 2151, 2152, 2153, 2154, 2155, 2156, 2157, 2158, 2159, 2160, 2161, 2162, 2163, 2164, 2165, 2166, 2167, 2168, 2169, 2170, 2171, 2172, 2173, 2174, 2175, 2176, 2177, 2178, 2179, 2180, 2181, 2182, 2183, 2184, 2185, 2186, 2187, 2188, 2189, 2190, 2191, 2192, 2193, 2194, 2195, 2196, 2197, 2198, 2199, 2200, 2201, 2202, 2203, 2204, 2205, 2206, 2207, 2208, 2209, 2210, 2211, 2212, 2213, 2214, 2215, 2216, 2217, 2218, 2219, 2220, 2221, 2222, 2223, 2224, 2225, 2226, 2227, 2228, 2229, 2230, 2231, 2232, 2233, 2234, 2235, 2236, 2237, 2238, 2239, 2240, 2241, 2242, 2243, 2244, 2245, 2246, 2247, 2248, 2249, 2250, 2251, 2252, 2253, 2254, 2255, 2256, 2257, 2258, 2259, 2260, 2261, 2262, 2263, 2264, 2265, 2266, 2267, 2268, 2269, 2270, 2271, 2272, 2273, 2274, 2275, 2276, 2277, 2278, 2279, 2280, 2281, 2282, 2283, 2284, 2285, 2286, 2287, 2288, 2289, 2290, 2291, 2292, 2293, 2294, 2295, 2296, 2297, 2298, 2299, 2300, 2301, 2302, 2303, 2304, 2305, 2306, 2307, 2308, 2309, 2310, 2311, 2312, 2313, 2314, 2315, 2316, 2317, 2318, 2319, 2320, 2321, 2322, 2323, 2324, 2325, 2326, 2327, 2328, 2329, 2330, 2331, 2332, 2333, 2334, 2335, 2336, 2337, 2338, 2339, 2340, 2341, 2342, 2343, 2344, 2345, 2346, 2347, 2348, 2349, 2350, 2351, 2352, 2353, 2354, 2355, 2356, 2357, 2358, 2359, 2360, 2361, 2362, 2363, 2364, 2365, 2366, 2367, 2368, 2369, 2370, 2371, 2372, 2373, 2374, 2375, 2376, 2377, 2378, 2379, 2380, 2381, 2382, 2383, 2384, 2385, 2386, 2387, 2388, 2389, 2390, 2391, 2392, 2393, 2394, 2395, 2396, 2397, 2398, 2399, 2400, 2401, 2402, 2403, 2404, 2405, 2406, 2407, 2408, 2409, 2410, 2411, 2412, 2413, 2414, 2415, 2416, 2417, 2418, 2419, 2420, 2421, 2422, 2423, 2424, 2425, 2426, 2427, 2428, 2429, 2430, 2431, 2432, 2433, 2434, 2435, 2436, 2437, 2438, 2439, 2440, 2441, 2442, 2443, 2444, 2445, 2446, 2447, 2448, 2449, 2450, 2451, 2452, 2453, 2454, 2455, 2456, 2457, 2458, 2459, 2460, 2461, 2462, 2463, 2464, 2465, 2466, 2467, 2468, 2469, 2470, 2471, 2472, 2473, 2474, 2475, 2476, 2477, 2478, 2479, 2480, 2481, 2482, 2483, 2484, 2485, 2486, 2487, 2488, 2489, 2490, 2491, 2492, 2493, 2494, 2495, 2496, 2497, 2498, 2499, 2500, 2501, 2502, 2503, 2504, 2505, 2506, 2507, 2508, 2509, 2510, 2511, 2512, 2513, 2514, 2515, 2516, 2517, 2518, 2519, 2520, 2521, 2522, 2523, 2524, 2525, 2526, 2527, 2528, 2529, 2530, 2531, 2532, 2533, 2534, 2535, 2536, 2537, 2538, 2539, 2540, 2541, 2542, 2543, 2544, 2545, 2546, 2547, 2548, 2549, 2550, 2551, 2552, 2553, 2554, 2555, 2556, 2557, 2558, 2559, 2560, 2561, 2562, 2563, 2564, 2565, 2566, 2567, 2568, 2569, 2570, 2571, 2572, 2573, 2574, 2575, 2576, 2577, 2578, 2579, 2580, 2581, 2582, 2583, 2584, 2585, 2586, 2587, 2588, 2589, 2590, 2591, 2592, 2593, 2594, 2595, 2596, 2597, 2598, 2599, 2600, 2601, 2602, 2603, 2604, 2605, 2606, 2607, 2608, 2609, 2610, 2611, 2612, 2613, 2614, 2615, 2616, 2617, 2618, 2619, 2620, 2621, 2622, 2623, 2624, 2625, 2626, 2627, 2628, 2629, 2630, 2631, 2632, 2633, 2634, 2635, 2636, 2637, 2638, 2639, 2640, 2641, 2642, 2643, 2644, 2645, 2646, 2647, 2648, 2649, 2650, 2651, 2652, 2653, 2654, 2655, 2656, 2657, 2658, 2659, 2660, 2661, 2662, 2663, 2664, 2665, 2666, 2667, 2668, 2669, 2670, 2671, 2672, 2673, 2674, 2675, 2676, 2677, 2678, 2679, 26

Andres, S

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP 98/06868

C. (Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document with indication where appropriate of the relevant passages	Relevant to claim No
A	WOOLF T M ET AL: "SPECIFICITY OF ANTISENSE OLIGONUCLEOTIDES IN VIVO" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA, vol. 89, 1 August 1992 (1992-08-01), pages 7305-7309, XP000574994 the whole document	1
A	PEYMAN A ET AL: "MINIMALLY MODIFIED OLIGONUCLEOTIDES-COMBINATION OF END-CAPPING AND PYRIMIDINE-PROTECTION" BIOLOGICAL CHEMISTRY HOPPE-SEYLER, vol. 377, no. 1, January 1996 (1996-01), pages 67-70, XP002041771 cited in the application the whole document	4-11
A	LE POOLE I C ET AL: "Tenascin is overexpressed in vitiligo lesional skin and inhibits melanocyte adhesion." BRITISH JOURNAL OF DERMATOLOGY, (1997 AUG) 137 (2) 171-8., XP002100599 cited in the application the whole document	
A	O'DONNELL D B ET AL: "TENASCIN IS ABUNDANT IN THE SKIN OF VITILIGO PATIENTS." J INVEST DERMATOL. (1992) 98 (4), PAGE 620, ABSTRACT 409., XP002100600 abstract & 1992 ANNUAL MEETING OF THE SOCIETY FOR INVESTIGATIVE DERMATOLOGY, BALTIMORE, MARYLAND, USA, APRIL 29-MAY 2, 1992. ,	
A	TORRENCE P F ET AL: "TARGETING RNA FOR DEGRADATION WITH A (2'-5')OLIGOADENYLATE-ANTISENSE CHIMERA" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA, vol. 90, no. 4, February 1993 (1993-02), pages 1300-1304, XP000644528 the whole document	4-6
A	ORTIGAO J F R ET AL: "ANTISENSE EFFECT OF OLIGODEOXYNUCLEOTIDES WITH INVERTED TERMINAL INTERNUCLEOTIDIC LINKAGES: A MINIMAL MODIFICATION PROTECTING AGAINST NUCLEOLYTIC DEGRADATION" ANTISENSE RESEARCH AND DEVELOPMENT, vol. 2, no. 2, 1 January 1992 (1992-01-01), pages 129-146, XP000573884 the whole document	4-6

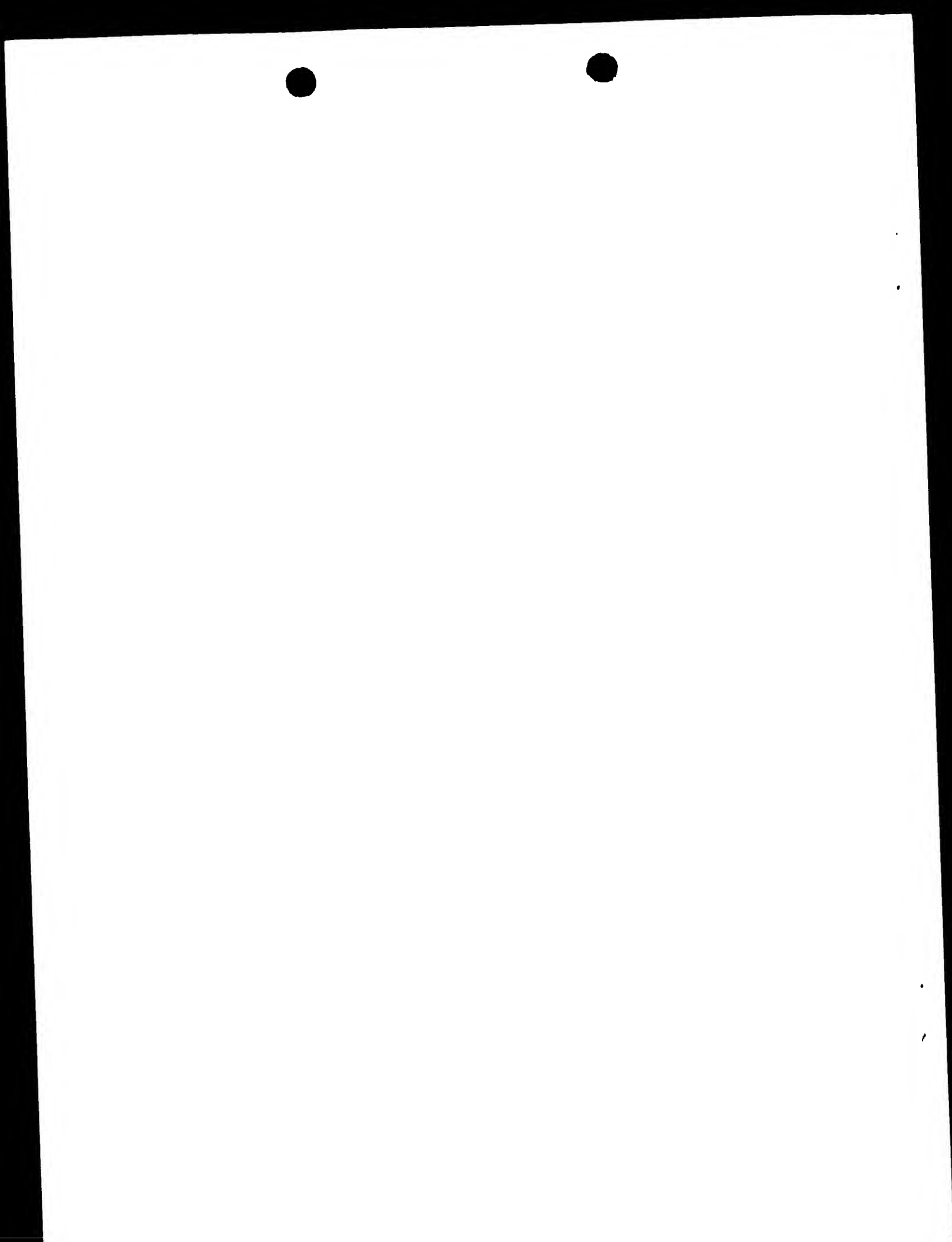
INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No.

PCT/EP 98/06868

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family members:	Publication date
WO 9421664 A	29-09-1994	AU 6524294 A	11-10-1994
		MX 9402222 A	31-01-1995
DE 19502912 A	01-08-1996	AU 4074795 A	08-08-1996
		CA 2168409 A	01-08-1996
		EP 0726274 A	14-08-1996
		JP 8238093 A	17-09-1996



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/EP 98/06868

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

see supplemental sheet FURTHER INFORMATION PCT/ISA/210
2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☒ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest
- ☐ No protest accompanied the payment of additional search fees

The International Searching Authority has established that this international application contains multiple (groups of) inventions as follows:

1. Claim nos.: 1-23 (all in part)

Oligonucleotides which bind to a nucleic acid of a human tenascin and inhibit the expression thereof, said oligonucleotides having one of the following SEQ IDs: 2-5, 7, 10, 18, 19, 21-24, 26, 29, 27, 28, 40-43, 45, 48, 56 or 57

2. Claim nos.: 1-23 (all in part)

As for invention 1 but relating to SEQ IDs: 6, 8, 9, 15, 17, 20, 25, 27, 28, 34, 36, 39, 44, 46, 47, 53, 55 and 58

3. Claim nos.: 1-23 (all in part)

As for invention 1 but relating to SEQ IDs: 11, 30 and 49

4. Claim nos.: 1-23 (all in part)

As for invention 1 but relating to SEQ IDs: 12, 31 and 50

5. Claim nos.: 1-23 (all in part)

As for invention 1 but relating to SEQ IDs: 13, 32 and 51

6. Claim nos.: 1-23 (all in part)

As for invention 1 but relating to SEQ IDs: 14, 33 and 52

7. Claim nos.: 1-23 (all in part)

As for invention 1 but relating to SEQ IDs: 16, 35 and 54.

Continuation of field I.4

Although claims 13-15 and 19 relate to a method of treatment/a method of diagnosis of/which is carried out on the human/animal body (in so far as they concern in vivo methods), the search was carried out and was based on the cited effects of the compound/composition.

PCT/EP 98/06868

Nach der internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPR

Rechnergestützter Mindestprüfstoff Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole:

Beziehungen aber nicht zum Mindestarbeitslohn gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die rechnerisierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
-----------	--	--------------------

X	WO 94 21664 A (TEXAS BIOTECHNOLOGY CORP :DENNER LARRY A (US); REGE AJAY A (US); D) 29. September 1994 (1994-09-29) in der Anmeldung erwähnt Seite 3. Zeile 15 - Zeile 26 Seite 4. Zeile 23 - Seite 5. Zeile 17 Seite 10. Zeile 10 - Seite 11. Zeile 12 Seite 17. Zeile 9 - Seite 23. Zeile 2	1-8.13. 16-18. 20.21
Y	Ansprüche	4-12. 14-16. 20-23
Y	--- DE 195 02 912 A (HOECHST AG) 1. August 1996 (1996-08-01) das ganze Dokument ---	4-12. 14-16. 20-23

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentamt

Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen

A) Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

E: älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist

Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgedr.)

☐ Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

• Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

7) Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist.

X) Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfindungszerű Tätigkeit beruhend betrachtet werden.

Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfindungsgeschichtlicher Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegender ist.

8) Veröffentlichung: die Mitglied der selben Patentfamilie ist:

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

Abschließendatum des internationalen Forschungsberichts

5. Juli 1999

20/07/1999

Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde:
Europäisches Patentamt, P.O. Box 5818, Patentlaan 2,
NL-1280 HV Rijswijk
Tel. +31-71-3430340, fax +31-651-661100
Fax +31-71-3430341, 343116

Bevollmächtigter Bediensteter

Andres, S

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 98/06868

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	WOOLF T M ET AL: "SPECIFICITY OF ANTISENSE OLIGONUCLEOTIDES IN VIVO" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA. Bd. 89, 1. August 1992 (1992-08-01). Seiten 7305-7309, XP000574994 das ganze Dokument	1
A	PEYMAN A ET AL: "MINIMALLY MODIFIED OLIGONUCLEOTIDES-COMBINATION OF END-CAPPING AND PYRIMIDINE-PROTECTION" BIOLOGICAL CHEMISTRY HOPPE-SEYLER, Bd. 377, Nr. 1, Januar 1996 (1996-01), Seiten 67-70, XP002041771 in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument	4-11
A	LE POOLE I C ET AL: "Tenascin is overexpressed in vitiligo lesional skin and inhibits melanocyte adhesion." BRITISH JOURNAL OF DERMATOLOGY, (1997 AUG) 137 (2) 171-8., XP002100599 in der Anmeldung erwähnt das ganze Dokument	
A	O'DONNELL D B ET AL: "TENASCIN IS ABUNDANT IN THE SKIN OF VITILIGO PATIENTS." J INVEST DERMATOL. (1992) 98 (4), PAGE 620, ABSTRACT 409., XP002100600 Zusammenfassung & 1992 ANNUAL MEETING OF THE SOCIETY FOR INVESTIGATIVE DERMATOLOGY, BALTIMORE, MARYLAND, USA, APRIL 29-MAY 2, 1992. .	
A	TORRENCE P F ET AL: "TARGETING RNA FOR DEGRADATION WITH A (2'-5')OLIGOADENYLATE-ANTISENSE CHIMERA" PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF USA, Bd. 90, Nr. 4, Februar 1993 (1993-02), Seiten 1300-1304, XP000644528 das ganze Dokument	4-6
A	ORTIGAO J F R ET AL: "ANTISENSE EFFECT OF OLIGODEOXYNUCLEOTIDES WITH INVERTED TERMINAL INTERNUCLEOTIDIC LINKAGES: A MINIMAL MODIFICATION PROTECTING AGAINST NUCLEOLYTIC DEGRADATION" ANTISENSE RESEARCH AND DEVELOPMENT, Bd. 2, Nr. 2, 1. Januar 1992 (1992-01-01). Seiten 129-146, XP000573884 das ganze Dokument	4-6

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur nationalen Patentfamilie gehören

Internationale Aktenzeichen
PCT/EP 98/06868

Im Recherchenbericht angefundenes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitgliedern der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
WO 9421664	A	29-09-1994	AU	6524294 A	11-10-1994
			MX	9402222 A	31-01-1995
DE 19502912	A	01-08-1996	AU	4074795 A	08-08-1996
			CA	2168409 A	01-08-1996
			EP	0726274 A	14-08-1996
			JP	8238093 A	17-09-1996

WEITERE ANGABEN

PCT/SA/ 210

Fortsetzung von Feld I.1

Obwohl die Ansprüche 13-15 und 19 (insofern es sich um in vivo Verfahren handelt) sich auf ein Verfahren zur Behandlung/ein Diagnostizierverfahren des/das am menschlichen/tierischen Körpers beziehen/ausgeführt wird, wurde die Recherche durchgeführt und gründete sich auf die angeführten Wirkungen der Verbindung/Zusammensetzung.

WEITERE ANGABEN

PCT/ISA/ 210

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere (Gruppen von) Erfindungen enthält, nämlich:

1. Ansprüche: 1-23 (Alle teilweise)

Oligonukleotide die an eine Nukleinsäure eines humanen Tenascins binden und dessen Expression inhibieren, wobei die Oligonukleotide eines der SEQ IDs 2-5, 7, 10, 18, 19, 21-24, 26, 29, 27, 28, 40-43, 45, 48, 56 oder 57 hat.

2. Ansprüche: 1-23 (Alle teilweise)

Sowie für Erfindung 1, aber sich auf SEQ IDs 6, 8, 9, 15, 17, 20, 25, 27, 28, 34, 36, 39, 44, 46, 47, 53, 55 und 58 beziehend

3. Ansprüche: 1-23 (Alle teilweise)

Sowie für Erfindung 1, aber sich auf SEQ IDs 11, 30 und 49 beziehend.

4. Ansprüche: 1-23 (Alle teilweise)

Sowie für Erfindung 1, aber sich auf SEQ IDs 12, 31 und 50 beziehend.

5. Ansprüche: 1-23 (Alle teilweise)

Sowie für Erfindung 1, aber sich auf SEQ IDs 13, 32 und 51 beziehend.

6. Ansprüche: 1-23 (Alle teilweise)

Sowie für Erfindung 1, aber sich auf SEQ IDs 14, 33 und 52 beziehend.

7. Ansprüche: 1-23 (Alle teilweise)

Sowie für Erfindung 1, aber sich auf SEQ IDs 16, 35 und 54 beziehend.

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

internationales Aktenzeichen

PCT/EP 98/06868

Feld I Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)

Gemäß Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:

1. ☒ Ansprüche Nr. _____
weil sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich
siehe Zusatzblatt WEITERE ANGABEN PCT/ISA/210
2. ☐ Ansprüche Nr. _____
weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen,
daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich _____
3. ☐ Ansprüche Nr. _____
weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.

Feld II Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 3 auf Blatt 1)

Die internationale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:

1. ☐ Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Ansprüche.
2. ☒ Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusätzliche Recherchegebühr gerechtfertigt hätte, hat die Behörde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
3. ☐ Da der Anmelder nur einige der erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr. _____
4. ☐ Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchegebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwähnte Erfindung, diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt: _____

Bemerkungen hinsichtlich eines Widerspruchs

- ☐ Die zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt
- ☐ Die Zahlung zusätzlicher Recherchegebühren erfolgte ohne Widerspruch

PCTWELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM
Internationales BüroINTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation ⁶ : C12N 15/11, A61K 31/70, C07H 21/00, C12Q 1/68	A2	(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 99/25819 (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 27. Mai 1999 (27.05.99)
(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP98/06868 (22) Internationales Anmeldedatum: 29. Oktober 1998 (29.10.98) (30) Prioritätsdaten: 197 50 702.6 15. November 1997 (15.11.97) DE (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): HOECHST MARION ROUSSEL DEUTSCHLAND GMBH [DE/DE]; Brüningstrasse 50, D-65929 Frankfurt am Main (DE). (72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): PEYMAN, Anuschirwan [DE/DE]; Zeilsheimer Strasse 46, D-65779 Kelkheim (DE). UHLMANN, Eugen [DE/DE]; Zum Talblick 31, D-61479 Glashütten (DE). WEISER, Caroline [DE/DE]; Karl-Staib-Strasse 37, D-65795 Hattersheim (DE). (74) Gemeinsamer Vertreter: HOECHST MARION ROUSSEL DEUTSCHLAND GMBH; Patent- und Lizenzabteilung, Gebäude K 801, D-65926 Frankfurt am Main (DE).		(81) Bestimmungsstaaten: AL, AU, BA, BB, BG, BR, CA, CN, CU, CZ, EE, GE, HR, HU, ID, IL, IS, JP, KR, LC, LK, LR, LT, LV, MG, MK, MN, MX, NO, NZ, PL, RO, RU, SG, SI, SK, SL, TR, TT, UA, US, UZ, VN, YU, ARIPO Patent (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG). Veröffentlicht <i>Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts.</i>
(54) Title: ANTISENSE OLIGONUCLEOTIDES AGAINST TENASCIN FOR TREATING VITILIGO (54) Bezeichnung: ANTISENSE OLIGONUKLEOTIDE GEGEN TENASCIN ZUR BEHANDLUNG VON VITILIGO (57) Abstract <p>The invention relates to specific, optionally modified oligonucleotides with a length of up to 18 nucleotides. Said oligonucleotides correspond to segments of tenascin-coding sequences or can bind to these sequences. The invention also relates to the production and use of the oligonucleotides, for example for the specific inhibition of the expression of tenascin and for producing medicaments used to treat vitiligo.</p> (57) Zusammenfassung <p>Die Erfindung betrifft spezifische, gegebenenfalls modifizierte Oligonukleotide mit einer Länge von bis zu 18 Nukleotiden, die Abschnitten Tenascin-kodierender Sequenzen entsprechen bzw. die an diese Sequenzen binden können, deren Herstellung sowie die Verwendung derselben, beispielsweise zur spezifischen Inhibition der Expression von Tenascin und zur Herstellung von Arzneimitteln, die zur Behandlung von Vitiligo verwendet werden können.</p>		

LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidshan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	ML	Mali	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	MN	Mongolei	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MR	Mauretanien	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MX	Mexiko	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CG	Kongo	KE	Kenia	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	PL	Polen		
CM	Kamerun	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CU	Kuba	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
CZ	Tschechische Republik	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DE	Deutschland	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
DK	Dänemark	LR	Liberia	SG	Singapur		
EE	Estland						

Antisense Oligonukleotide gegen Tenascin zur Behandlung von Vitiligo

Die Erfindung betrifft spezifische, gegebenenfalls modifizierte Oligonukleotide mit einer Länge von bis zu 18 Nukleotiden, vorzugsweise einer Länge von 7-15 Nukleotiden, die Abschnitten Tenascin-kodierender Sequenzen entsprechenden und die an diese Sequenzen binden können, deren Herstellung sowie die Verwendung derselben, beispielsweise zur spezifischen Inhibition der Expression von Tenascin und zur Herstellung von Arzneimitteln, die zur Behandlung von Vitiligo verwendet werden können.

Unter Vitiligo wird ein erworbenes Fehlen von Melanozyten verstanden, wodurch hypopigmentierte Hautbereiche entstehen, die in der Regel scharf begrenzt und häufig symmetrisch angeordnet sind, einen oder zwei Flecke bilden oder fast die ganze Haut erfassen. Das Haar in hypopigmentierten Bezirken ist normalerweise weiß und erscheint auch im Wood-Licht weiß. Die betroffenen Hautstellen sind anfällig gegen Sonnenbrand. Die Ursache der Erkrankung ist unbekannt. Obwohl die Vitiligo als eine im Laufe des Lebens erworbene Krankheit gilt, findet sich gelegentlich eine familiäre Häufung (autosomal-dominant, mit inkompletter Penetranz und variabler Ausprägung). Sie kann auch einem ungewöhnlichen physischen Trauma, insbesondere einer Schädelverletzung, folgen. Die Assoziation von Vitiligo mit einem Morbus Addison, Diabetes mellitus, perniziöser Anämie oder Schilddrüsendysfunktion wie auch das gehäufte Vorkommen von Antikörpern gegen Thyreoglobulin, Zellen der Nebenniere und Belegzellen des Magens im Serum haben dazu geführt, eine immunologische oder neurochemische Ursache zu vermuten. Antikörper gegen Melanin wurden bei einigen Patienten gefunden.

Alle verfügbaren Therapiemethoden führen nur bei einem Teil der Patienten zu befriedigenden Therapieerfolgen (F. Wach et al., H+G 71 (1996) 206). Zu den vorhandenen Therapien (S. P. W. Kumarasinghe, Ceylon Medical Journal 40 (1995) 94) gehören Photochemotherapien (PUVA), beispielsweise mit Methoxypsoralen, Phenylalanin, oder Khellin, die Transplantation von kultivierten

Melanocyten, "epidermal grafting", und die Behandlung mit Steroiden oder Plazenta-Extrakten. Kürzlich wurde über die Behandlung mit Pseudokatalase berichtet (Schallreuter et al., *Dermatology* 190 (1995) 223). Kleine Herde können auch mit kosmetischer Schminke oder Gerblösungen abgedeckt werden.

Poole et al. (*British Journal of Dermatol.* 137 (1997) 171) konnten zeigen, daß die Vitiligo befallene Haut im Vergleich zu normaler Haut einen hohen Gehalt an Tenascin aufweist. Der hohe Tenascin-Gehalt kann zum Verlust der Pigmentierung beitragen und die Repigmentierung verhindern. Tenascin (Crossin, *J. Cell. Biol.* 61 (1996) 592) ist ein extrazelluläres Matrix Glykoprotein, das aus sechs identischen Untereinheiten besteht, welche am Amino-Terminus über Disulfid-Brücken verknüpft sind. Die Tenascin Untereinheiten weisen eine charakteristische Domänenstruktur auf: Auf eine Cystein-reiche Sequenz am aminotermialen Ende folgen drei, jeweils aus sich wiederholenden Einheiten aufgebaute Sequenzabschnitte aus zum EGF homologen Einheiten, aus zum Fibronectin (Typ III) homologen Einheiten und aus zum Fibrinogen homologen Einheiten.

Es existieren mehrere Isoformen der Tenascin Untereinheiten (im folgenden als Tenascin Isoformen bezeichnet), die sich in der Anzahl der sich wiederholenden Einheiten, die zum Fibronectin Typ III homolog sind, unterscheiden. Diese Isoformen werden durch alternatives splicing der Tenascin pre-mRNA und anschließende Translation der verschiedenen Splicevarianten gebildet (A. Leprini et al., *Perspectives on Developmental Neurobiology* 2 (1994) 117-123). Eine cDNA von humanem Tenascin wurde von A. Siri et al. (*Nucl. Acids Res.* 19 (1991) 525-531) beschrieben (Sequenz in Tabelle 1). Diese cDNA ist unter der Zugangsnummer X56160 in Gen-Datenbanken gespeichert und kann unter dieser Nummer beispielsweise unter EMBL/Genbank/DDBJ/NBRF-PIR erhalten werden. Diese cDNA enthält einen Sequenzabschnitt, der für 12 sich wiederholende Einheiten, die zum Fibrinogen Typ III homolog sind, kodiert. Die cDNAs der anderen Isoformen humanen Tenascins sind in diesem Sequenzabschnitt verkürzt und kodieren für weniger als 12 dieser sich wiederholenden Einheiten.

Die Expression von Tenascin ist räumlich und zeitlich begrenzt und ihm wird eine Bedeutung während der Entwicklung eines Organismus sowie bei pathologischen Veränderungen zugeschrieben (Crossin, vide supra). Solche pathologischen Veränderungen sind beispielsweise Vitiligo, Tumore und Entzündungen.

Eine Möglichkeit zur Regulation der Genexpression bieten Antisense-Oligonukleotide (E. Uhlmann and A. Peyman, Chemical Reviews 90, 543 (1990); S. Agrawal, TIBTECH 1996, 376). In WO 94/21664 (L. Denner et al.) werden Antisense Oligonukleotide gegen Tenascin, die zur Inhibition der Proliferation der glatten Zellmuskulatur eingesetzt werden, beschrieben. Die dort beschriebenen Oligonukleotide haben eine Länge von mindestens 18 Nukleotiden.

Eine Aufgabe der vorliegenden Erfindung war es, neue Oligonukleotide, die vorteilhafte Eigenschaften aufweisen und die zur vollständigen und/oder teilweisen Inhibition der Genexpression von Tenascin verwendet werden können, bereitzustellen.

Überraschenderweise wurde gefunden, daß Oligonukleotide, die eine Länge von bis zu 18 Nukleotiden aufweisen, die Expression von Tenascin effektiv beeinflussen können. Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind Oligonukleotide mit 7 - 17 Nukleotid-Einheiten, die gegebenenfalls modifiziert sind. In besonderen Ausführungsformen der Erfindung weist das Oligonukleotid eine Länge von 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8 oder 7 Nukleotiden auf. Das Oligonukleotid entspricht Abschnitten Tenascin-kodierender Sequenzen (d.h. das Oligonukleotid hat eine Sequenz, die zu dem entsprechenden Abschnitt einer Tenascin-kodierenden Sequenz komplementär ist) und das Oligonukleotid bindet spezifisch an diese Tenascin-kodierende Sequenz (Nukleinsäure), beispielsweise an das Tenascin-Gen und/oder Tenascin mRNA und/oder Tenascin cDNA, wobei die Tenascin-kodierende Sequenz vorzugsweise humanen Ursprungs ist (z.B. humanes Tenascin Gen, humane Tenascin mRNA, humane Tenascin cDNA). Der Abschnitt der Tenascin-

kodierenden Sequenz, dem das Oligonukleotid entspricht bzw. zu dem das Oligonukleotid komplementär ist, hat vorzugsweise eine Länge von 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8 oder 7 Nukleotid-Einheiten (dies gilt insbesondere für die Bestimmung der Länge eines modifizierten und/oder chimären Oligonukleotids bzw. von Oligonukleotid-Analoga).

Eine besondere Ausführungsform der Erfindung betrifft ein Oligonukleotid, das an eine Nukleinsäure, die für eine der Isoformen humanen Tenascins oder Teile derselben kodiert, bindet und deren Expression inhibiert, wobei das Oligonukleotid eine Länge von 7 bis 15 Nukleotiden aufweist und gegebenenfalls modifiziert sein kann sowie die physiologisch verträglichen Salze des Oligonukleotids.

Eine besondere Ausführungsform der Erfindung betrifft ein Oligonukleotid, das gegen einen oder mehrere bestimmte Bereiche einer Tenascin-kodierenden Sequenz gerichtet ist, beispielsweise den Translationsstart, den 5'- nicht translatierten Bereich, den kodierenden Bereich und/oder den 3'-nicht-kodierenden Bereich. In einer besonderen Ausführungsform der Erfindung kann das Oligonukleotid auch gegen einen oder mehrere Bereiche einer Tenascin-kodierenden Sequenz gerichtet sein, die z.B. für bestimmte Domänen des Tenascins kodiert, beispielsweise gegen die Cystein-reiche Domäne, gegen eine zum EGF homologe Domäne, gegen eine zum Fibronectin Typ III homologe Domäne und/oder gegen eine zum Fibrinogen homologe Domäne.

Eine Ausführungsform der Erfindung betrifft ein Oligonukleotid, das an eine Nukleinsäure, die für eine der Isoformen humanen Tenascins oder Teile derselben kodiert, bindet und deren Expression inhibiert, wobei das Oligonukleotid an einen Bereich der Nukleinsäure binden kann, der

- a) einen Teil des 5'-nichtkodierenden Bereichs und/oder den Translationsstart oder
- b) den Translationsstart und/oder einen Teil des kodierenden Bereichs oder

c) einen Teil des kodierenden Bereichs und/oder
einen Teil des 3'-nichtkodierenden Bereichs
umfaßt.

Gegenstand der Erfindung ist insbesondere ein Oligonukleotid, das einem Sequenzabschnitt der humanen cDNA gemäß SEQ ID NO. 1 (Tabelle 1) entspricht. Gegenstand der Erfindung ist weiterhin ein Oligonukleotid, das einem Sequenzabschnitt der cDNA, die in Gendatenbanken unter der Zugangsnummer X56160 gespeichert ist, entspricht.

In speziellen Ausführungsformen der Erfindung kann ein Oligonukleotid beispielsweise eine der folgenden Sequenzen oder Teile derselben haben:

SEQ ID NO. 2: 3'- GGT TTGGGTGGAGGTGG -5'
SEQ ID NO. 3: 3'- GGAGGTGGTACCCCCGG -5'
SEQ ID NO. 4: 3'- GGTGGTACCCCCGG -5'
SEQ ID NO. 5: 3'- GGAGGTGGTACCCC -5'
SEQ ID NO. 6: 3'- AGAAAGAACGAAAGGAA -5'
SEQ ID NO. 7: 3'- GGAGGTGGTACC -5'
SEQ ID NO. 8: 3'- GGAGCGATGGCTTCCA -5'
SEQ ID NO. 9: 3'- AAAGGAACGGGAGCG -5'
SEQ ID NO. 10: 3'- GGTCTGGTTTGGGTGG -5'
SEQ ID NO. 11: 3'- CTTACAGGTCCGTTGA -5'
SEQ ID NO. 12: 3'- GGCCGTGTTCTGCTGT -5'
SEQ ID NO. 13: 3'- TCACCCCTCTTTCTGG -5'
SEQ ID NO. 14: 3'- GGACACCGACACGG -5'
SEQ ID NO. 15: 3'- AACGGGAGCGATGG -5'
SEQ ID NO. 16: 3'- ATCTCGGGGTCGTC -5'
SEQ ID NO. 17: 3'- AAAGAACGAAAGGAA -5'
SEQ ID NO. 18: 3'- GGTGGTACCCC -5'
SEQ ID NO. 19: 3'- CCCGGTACTGA -5' und

SEQ ID NO. 20: 3'- CCACAGAAAGAAC -5'.

Die Sequenzen SEQ ID NO. 2 bis SEQ ID NO. 20 entsprechen Abschnitten der Tenascin-kodierenden cDNA, wie sie in Tabelle 1 dargestellt ist. Ein Oligonukleotid, das eine der Sequenzen SEQ ID NO. 2 bis SEQ ID NO. 20 hat, ist komplementär zu einem entsprechenden Abschnitt einer Tenascin-kodierenden Nukleinsäure, z.B. einer humanen Tenascin cDNA und kann an diese Nukleinsäure binden. Sequenzen SEQ ID NO.3, SEQ ID NO. 4, SEQ ID NO. 5, SEQ ID NO. 7 und SEQ ID NO. 18 sind Beispiele für Oligonukleotide, die eine Sequenz aufweisen, die gegen den Translationsstart der Tenascin-kodierenden Sequenzen gerichtet ist.

Gegenstand der Erfindung sind auch Derivate eines Oligonukleotids, beispielsweise dessen Salze, insbesondere dessen physiologisch verträglichen Salze. Unter physiologisch verträglichen Salzen werden in Wasser leicht lösliche, lösliche und wenig lösliche Verbindungen, beispielsweise gemäß der Definition im "Deutschen Arzneibuch" (9. Ausgabe 1986, Amtliche Ausgabe, Deutscher Apotheker Verlag Stuttgart), Seite 19, verstanden. Eine spezielle Ausführungsform der Erfindung betrifft das Natriumsalz des erfindungsgemäßen Oligonukleotids. Derivate sind auch modifizierte Oligonukleotide.

Ein Oligonukleotid kann beispielsweise vollständig oder teilweise aus den natürlichen Nukleotiden Adenosinphosphat, Guanosinphosphat, Inosinphosphat, Cytidinphosphat, Uridinphosphat und Thymidinphosphat aufgebaut sein. Eine Ausführungsform der Erfindung betrifft ein Oligonukleotid, das aus den natürlichen Nukleosiden Adenosin, Guanosin, Inosin, Cytidin, Uridin und Thymidin aufgebaut ist und in welchem die Nukleoside über Phosphorsäurediester Internukleosid-Brücken („Phosphorsäurediester-Brücken“) miteinander verknüpft sind.

In anderen Ausführungsformen der Erfindung kann ein Oligonukleotid gegebenenfalls ein oder mehrere Modifikationen, beispielsweise chemische Modifikationen, enthalten. Ein Oligonukleotid kann mehrere gleiche und/oder

verschiedene Modifikationen aufweisen. Modifikationen können an bestimmten Nukleosid Positionen (Nukleobase und/oder β -D-2'-Deoxyribose Einheit) und/oder bestimmten Internukleosid-Brücken lokalisiert sein.

Beispiele für chemische Modifikationen sind dem Fachmann bekannt und beispielsweise in E. Uhlmann and A. Peyman, Chemical Reviews 90 (1990) 543 und "Protocols for Oligonukleotides and Analogs" Synthesis and Properties & Synthesis and Analytical Techniques, S. Agrawal, Ed, Humana Press, Totowa, USA 1993, S. T. Crooke, F. Bennet, Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 36 (1996) 107-129 und J. Hunziber and C. Leumann (1995) Mod. Synt. Methods, 7, 331-417 beschrieben.

Die chemische Modifikation eines Oligonukleotids kann beispielsweise

a) den vollständigen oder teilweisen Ersatz der Phosphorsäurediester-Brücken (Internukleosid-Brücke) durch modifizierte Phosphobrücken bedeuten, wobei Phosphorothioat-, Phosphorodithioat-, $\text{NR}^1\text{R}^{1'}$ -Phosphoramidat-, Boranophosphat-, Phosphat-($\text{C}_1\text{-C}_{21}$)-O-Alkylester, Phosphat-[($\text{C}_6\text{-C}_{12}$)Aryl-($\text{C}_1\text{-C}_{21}$)-O-Alkyl]ester, ($\text{C}_1\text{-C}_8$)Alkylphosphonat- und/oder ($\text{C}_6\text{-C}_{12}$)-Arylphosphonat-Brücken Beispiele für modifizierte Phosphobrücken sind, wobei

R^1 und $\text{R}^{1'}$ unabhängig voneinander für Wasserstoff, ($\text{C}_1\text{-C}_{18}$)-Alkyl, ($\text{C}_6\text{-C}_{20}$)-Aryl, ($\text{C}_6\text{-C}_{14}$)-Aryl-($\text{C}_1\text{-C}_8$)-alkyl, bevorzugt für Wasserstoff, ($\text{C}_1\text{-C}_8$)-Alkyl und/oder Methoxyethyl, besonders bevorzugt für Wasserstoff, ($\text{C}_1\text{-C}_4$)-Alkyl und/oder Methoxyethyl stehen

oder

R^1 und $\text{R}^{1'}$ zusammen mit dem sie tragenden Stickstoffatom einen 5-6-gliedrigen heterocyclischen Ring bilden, der zusätzlich ein weiteres Heteroatom aus der Reihe O, S, N enthalten kann;

und/oder

b) den vollständigen oder teilweisen Ersatz der 3'- und/oder 5'-Phosphorsäurediester Internukleosid Brücken („Phosphorsäurediesterbrücken“) durch "Dephospho"-Brücken (beschrieben beispielsweise in Uhlmann, E. und Peyman, A. in "Methods in Molecular Biology", Vol. 20, "Protocols for

Oligonukleotides and Analogs", S. Agrawal, Ed., Humana Press, Totowa 1993, Chapter 16, 355ff) bedeuten, wobei Formacetal-, 3'-Thioformacetal-, Methylhydroxylamin-, Oxim-, Methylendimethylhydrazo-, Dimethylensulfon- und/oder Silylgruppen Beispiele für "Dephospho"-Brücken sind;
und/oder

c) den vollständigen oder teilweisen Ersatz des Zuckerphosphat-Rückgrats (Ersatz von Zucker-Phosphat-Einheiten) durch andere Einheiten bedeuten, wobei die andere Einheit beispielsweise geeignet, ist ein "Morpholin-Derivat"-Oligomer (beispielweise in E. P. Stirchak et al., Nucleic Acids Res. 17 (1989) 6129 beschrieben) aufzubauen (d.h. Ersatz durch eine Morpholino-Derivat Einheit) und/oder geeignet ist eine Polyamid Nucleinsäure ("PNA") (beispielweise beschrieben in P. E. Nielsen et al, Bioconj. Chem. 5 (1994) 3 (EP 0 672 677)) aufzubauen (d.h. Ersatz durch eine PNA Einheit, beispielsweise 2-Amino-ethylglycin) und/oder geeignet ist, eine Phosphomonosäureester Nukleinsäure ("PHONA", „PMENA“) (beschrieben beispielsweise in Peyman et al., Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 35 (1996) 2632-2638, EP 0 739 898) aufzubauen (d.h. Ersatz durch eine PHONA Einheit);
und/oder

d) den vollständigen oder teilweisen Ersatz der β -D-2'-Desoxyribose (β -D-2'-Desoxyribose-Einheiten) durch modifizierte Zuckereinheiten bedeuten, wobei α -D-2'-Desoxyribose, L-2'-Desoxyribose, 2'-F-2'-Desoxyribose, 2'-O-(C₁-C₆)Alkyl-Ribose, vorzugsweise 2'-O-Methylribose, 2'-O-(C₂-C₆)Alkenyl-Ribose, 2'-[O-(C₁-C₆)Alkyl-O-(C₁-C₆)Alkyl]-Ribose, 2'-NH₂-2'-desoxyribose, β -D-Xylofuranose, α -Arabinofuranose, 2,4-Dideoxy- β -D-erythro-hexo-pyranose, carbocyclische Zuckeranlaoga (beschrieben beispielsweise in Froehler, J. Am. Chem. Soc. 114 (1992) 8320), offenkettige Zuckeranaloge (beschrieben beispielsweise in Vandendriessche et al., Tetrahedron 49 (1993) 7223) und Bicyclo-Zuckeranaloge (beschrieben beispielsweise in M. Tarkov et al., Helv. Chim. Acta 76 (1993) 481) Beispiele für modifizierte Zuckereinheiten sind;
und/oder

e) die Modifikation beziehungsweise den vollständigen oder teilweisen Ersatz der natürlichen Nukleosid-Basen durch modifizierte (Nukleosid-) Basen („Nukleobasen“) bedeuten, wobei 5-(Hydroxymethyl)uracil, 5-Aminouracil, Pseudouracil, Dihydrouracil, 5-(C₁-C₆)-Alkyl-uracil, 5-(C₂-C₆)-Alkenyl-uracil, 5-(C₂-C₆)-Alkynyl-uracil, 5-(C₁-C₆)-Alkyl-cytosin, 5-(C₂-C₆)-Alkenyl-cytosin, 5-(C₂-C₆)-Alkynyl-cytosin, 5-Fluoruracil, 5-Fluorcytosin, 5-Chloruracil, 5-Chlorcytosin, 5-Bromuracil, 5-Bromcytosin, 7-Deaza-7-substituierte Purine, 7-Deaza-8-substituierte Purine, 8-Azapurine, 2,4-Diamino-purine, 5-Bromcytosin, 5-Bromuracil, 5-Chlorcytosin, 5-Chloruracil, 5-Fluorcytosin, 5-Fluoruracil, Hypoxanthin und Uracil Beispiele für modifizierte Basen sind;

und/oder

f) die Konjugation mit einem oder mehreren Molekülen (Oligonukleotid-Konjugate), die die Eigenschaft(en) des Oligonukleotids an spezielle Anforderungen anpassen bzw. die Eigenschaften (z.B. Zellpenetration, Nukleasestabilität, Affinität zur Tenascin-kodierenden Target-Sequenz, Pharmakokinetik) des Oligonukleotids (z.B. Antisense-Oligonukleotid, Tripelhelix-bildendes Oligonukleotid) günstig beeinflussen und/oder bei der Hybridisierung des Oligonukleotids an die Target-Sequenz diese unter Bindung und/oder Quervernetzung angreifen kann bzw. können, bedeuten, wobei Poly-Lysin, Interkalatoren wie Pyren, Acridin, Phenazin, Phenanthridin, fluoreszierende Verbindungen wie Fluorescein, Cross-Linker wie Psoralen, Azidoproflavin, lipophile Moleküle wie (C₁₂-C₂₀)-Alkyl, Lipide wie 1,2-Di-hexadecyl-rac-glycerin, Steroide wie Cholesterin, Testosteron, Vitamine wie Vitamin E, Poly- bzw. Oligo-ethylenglycol, (C₁₂-C₁₈)-Alkyl-Phosphatdiester und -O-CH₂-CH(OH)-O-(C₁₂-C₁₈)-Alkyl Beispiele für Moleküle sind, die an ein Oligonukleotid konjugiert werden können, wobei solche Moleküle am 5'- und/oder am 3'-Ende und/oder innerhalb der Sequenz, z.B. über eine Nukleobase an das Oligonukleotid konjugiert sein können:

und/oder

g) die Konjugation an ein 2'5'-verbundenes Oligoadenylat oder ein Derivat desselben bedeutet, wobei ein 2'5'-verbundenes Triadenylat, ein 2'5'-verbundenes Tetraadenylat, ein 2'5'-verbundenes Pentaadenylat u.s.w. Beispiele für 2'5'-

verbundene Oligoadenylate sind und Cordycepin (2'5'-verbundenes 3'-Deoxyadenylat) ein Beispiel für ein Derivat eines 2'5'-verbundenen Oligoadenylats ist, wobei die Konjugation vorzugsweise über einen Linker erfolgt, wobei das 5'-Ende des 2'5'-verbundenen Oligoadenylats vorzugsweise eine Phosphat-, Diphosphat- oder Triphosphatgruppe sein kann, wobei der Linker beispielsweise ein Oligoethylenglykole sein kann, wobei Triethylenglykol, Tetraethylenglykol und Hexaethylenglykol Beispiele für Oligoethylenglykol Linker sind; und/oder

h) die Einführung einer 3'-3'- und/oder 5'-5'-Inversion am 3' und/oder am 5'-Ende des Oligonukleotids bedeuten, wobei diese Art der chemischen Modifikation dem Fachmann bekannt und beispielsweise in M. Koga et al., J. Org. Chem. 56 (1991) 3757 beschrieben ist.

In bevorzugten Ausführungsformen der Erfindung weist das Oligonukleotid eine oder mehrere chemische Modifikationen auf, die unabhängig voneinander ausgewählt werden aus

- a) dem vollständigen oder teilweisen Ersatz der Phosphorsäurediesterbrücken durch Phosphorothioat- und/oder (C₁-C₈)Alkylphosphonat-Brücken,
- b) dem vollständigen oder teilweisen Ersatz des Zuckerphosphat-Rückgrats durch PNA-Einheiten und/oder PHONA-Einheiten,
- c) den vollständigen oder teilweisen Ersatz der β -D-2'-Desoxyriboseeinheiten durch 2'-F-2'-Desoxyribose, 2'-O-(C₁-C₆)Alkyl-Ribose und/oder 2'-[O-(C₁-C₆)Alkyl-O-(C₁-C₆)Alkyl]-Ribose,
- d) den vollständigen oder teilweisen Ersatz der natürlichen Nucleosid-Basen durch 5-(C₂-C₆)-Alkynyl-uracil und/oder 5-(C₂-C₆)-Alkynyl-cytosin,
- e) die Konjugation des Oligonukleotids mit einem oder mehreren Molekülen, die unabhängig voneinander ausgewählt werden können aus der Reihe enthaltend lipophile Moleküle, z.B. (C₁₂-C₂₀)-Alkyl, Lipide, z.B. 1,2-Di-hexadecyl-rac-glycerin, Steroide, z.B. Cholesterin und/oder Testosteron, Vitamine, z.B. Vitamin E, Poly- bzw. Oligo-ethylenglycol, (C₁₂-C₁₈)-Alkyl-Phosphatdiestern und -O-CH₂-CH(OH)-O-(C₁₂-C₁₈)-Alkyl und

- f) ein oder mehreren 3'-3'- Inversionen am 3'-Ende des Oligonucleotids,
In einer anderen bevorzugten Ausführungsform der Erfindung weist das Oligonukleotid eine oder mehrere chemische Modifikationen auf, die unabhängig voneinander ausgewählt werden können aus der Reihe enthaltend
- a) den vollständigen oder teilweisen Ersatz der Phosphorsäurediesterbrücken (Phosphodiester Brücken) durch Phosphorothioat-Brücken,
 - b) den vollständigen oder teilweisen Ersatz der β -D-2'-Desoxyriboseeinheiten durch 2'-F-2'-Desoxyribose, 2'-O-(C₁-C₆)Alkyl-Ribose und/oder 2'-[O-(C₁-C₆)Alkyl-O-(C₁-C₆)Alkyl]-Ribose,
 - c) die Konjugation mit lipophilen Molekülen, z.B. (C₁₂-C₂₀)-Alkyl, mit Lipiden, z.B. 1,2-Di-hexadecyl-rac-glycerin, mit (C₁₂-C₁₈)-Alkyl-Phosphatdiestern und/oder mit -O-CH₂-CH(OH)-O-(C₁₂-C₁₈)-Alkyl.

Verfahren zur Herstellung eines Oligonukleotid-Konjugats sind dem Fachmann bekannt und z.B. in Uhlmann, E. & Peyman, A., Chem. Rev. 90 (1990) 543 und/oder M. Manoharan in "Antisense Research and Applications", Crooke and Lebleu, Eds., CRC Press, Boca Raton, 1993, Chapter 17, S.303ff. und/oder EP-A 0 552 766 beschrieben.

In einer besonderen Ausführungsform der Erfindung wird ein Oligonukleotid bereitgestellt, das eine oder mehrere Modifikationen aufweisen kann und das eine der Sequenzen SEQ ID NO. 2 - SEQ ID NO. 20 aufweist bzw. das einer der Sequenzen SEQ ID NO. 2 bis SEQ ID NO. 20 entspricht bzw. das den entsprechenden Sequenz-Abschnitten einer Tenascin-kodierenden Sequenz entspricht und an diesen Abschnitt der Tenascin-kodierenden Sequenz binden kann.

In einer besonderen Ausführungsform der Erfindung wird Oligonukleotid bereitgestellt, in dessen Sequenz jedes Nukleotid (Base und/oder Zucker und/oder Internukleosid Brücke) modifiziert ist. In einer besonderen Ausführungsform der Erfindung ist beispielsweise das Oligonukleotid vollständig aus Phosphorothioaten

aufgebaut (durchgängig modifiziertes Phosphothioat, alle Internukleosid Brücken modifiziert). In einer weiteren speziellen Ausführungsform der Erfindung wird ein Oligonukleotid bereitgestellt, das einer der Sequenzen SEQ ID NO. 2 - SEQ ID NO. 20 entspricht, wobei aber die Phosphodiester Brücken zwischen den einzelnen Nukleosiden (d.h. die Internukleosid-Brücken zwischen den einzelnen Nukleosiden) vollständig durch Phosphothioat Brücken (d.h. Phosphothioatgruppen zwischen den Nukleosiden) ersetzt sind.

In einer weiteren besonderen Ausführungsform der Erfindung wird ein Oligonukleotid bereitgestellt, indem nur ein Teil der Phosphodiester Brücken durch Phosphothioat Brücken ersetzt ist. Insbesondere beinhaltet die Erfindung Oligonukleotide die nur minimal (bzw. partiell) modifiziert sind. Das Prinzip der minimal modifizierten Oligonukleotide ist beschrieben in A. Peyman, E. Uhlmann, Biol. Chem. Hoppe-Seyler, 377 (1996) 67-70. Dabei werden 1-5, vorzugsweise 1-3 endständige Nukleotid-Einheiten (bzw. vorzugsweise die entsprechenden Internukleosid-Brücken) am 5'- und/oder am 3'-Ende und ggf. zusätzlich ausgewählte interne Pyrimidin-Positionen bzw. vorzugsweise die entsprechenden Internukleosid Brücken, die am 3'- und/oder 5'-Ende des entsprechenden Pyrimidin Nukleosids lokalisiert sind, modifiziert bzw. ersetzt, wobei vorzugsweise Internukleosid Brücken durch Phosphorothioat Brücken ersetzt werden. Auf diese Weise minimal modifizierte Oligonukleotide weisen besonders vorteilhafte Eigenschaften auf, beispielsweise zeigen sie besondere Nukleasestabilität bei minimaler Modifikation.

Eine besondere Ausführungsform der Erfindung betrifft ein Oligonukleotid, bei dem ausgewählte Internukleosid Brücken durch modifizierte Internukleosid Brücken ersetzt wird, vorzugsweise durch Phosphorothioat Brücken.

Gegenstand der Erfindung ist ein Oligonukleotid bei dem entweder

- a) nur bestimmte Phosphodiester Internukleosid-Brücken oder
- b) alle Phosphodiester Internukleosid-Brücken

modifiziert sind.

Gegenstand der Erfindung ist weiterhin ein bei dem 1 - 5 endständige Internukleosid-Brücken am 5'-und/oder am 3'-Ende des Oligonukleotids modifiziert sind. Gegenstand der Erfindung ist auch ein Oligonukleotid, bei dem die am 3'- und/oder 5'-Ende von nicht endständigen Nukleosiden, die eine Pyrimidin Base enthalten (interne Pyrimidin Nukleoside), lokalisierten Internukleosid-Brücken modifiziert sind.

Spezielle Ausführungsformen der Erfindung beinhalten ein minimal modifiziertes Oligonukleotid, das ist eine der Sequenzen, ausgewählt aus der Reihe der Sequenzen SEQ ID NO. 21 bis SEQ ID NO. 39, aufweist, wobei

- SEQ ID NO. 21: 3'- GsGsTsTsTGGGTsGGAGGsTsGsG -5',
- SEQ ID NO. 22: 3'- GsGsAsGGTsGGTsACsCCsCCsGsG -5',
- SEQ ID NO. 23: 3'- GsGsTGGTsACsCsCCsCsGsG -5',
- SEQ ID NO. 24: 3'- GsGsAGGTsGGTsACsCsCsC -5',
- SEQ ID NO. 25: 3'- AsGsAAAGAAAsCsGAAAGGsAsA -5',
- SEQ ID NO. 26: 3'- GsGsAGGTsGGTsAsCsC -5',
- SEQ ID NO. 27: 3'- GsGsAGCsGATsGGCsTsTsCsCsA -5',
- SEQ ID NO. 28: 3'- AsAsAGGAACsGGGAGsCsG -5',
- SEQ ID NO. 29: 3'- GsGsTCGGTsTsTGGGTsGsG -5',
- SEQ ID NO. 30: 3'- CsTsTACAGGTsCsCGTsTsGsA -5',
- SEQ ID NO. 31: 3'- GsGsCsCGsTGTsTCGCsTsGsT -5',
- SEQ ID NO. 32: 3'- TsCsACsCCsCTsCsTTsTsCsTsGsG -5',
- SEQ ID NO. 33: 3'- GsGsAsCACsCGACsACsGsG -5',
- SEQ ID NO. 34: 3'- AsAsCsGGGAGCGATsGsG -5',
- SEQ ID NO. 35: 3'- AsTsCsTCGGGGTsCsGsTsC -5',
- SEQ ID NO. 36: 3'- AsAsAGAACsGAAAGGsAsA -5',
- SEQ ID NO. 37: 3'- GsGsTGGTsACsCsCsC -5',
- SEQ ID NO. 38: 3'- CsCsCsGGTsACsTsGsA -5',

SEQ ID NO. 39: 3'- CsCsAsCAGAAAGsAsAsC -5' ist und

wobei "s" die Position einer modifizierten Internukleosid-Brücke bzw. Dephosphobrücke angibt, wobei „s“ vorzugsweise die Position einer Phosphorothioat Brücke angibt .

Die Sequenzen SEQ ID NO. 21 bis SEQ ID NO. 39 entsprechen den Sequenzen SEQ ID NO. 2 - SEQ ID NO. 20, d.h. sie können an die gleichen Bereiche einer Tenascin-kodierenden Sequenz binden, wobei allerdings im Gegensatz den SEQ ID NO. 2-20 ein Teil der Phosphodiester Brücken durch modifizierte Phosphodiester-Brücken bzw. Dephosphobrücken, vorzugsweise durch Phosphothioat-Brücken (in der Sequenz durch ein "s" gekennzeichnet) ersetzt ist.

Eine weitere Ausführungsform der Erfindung betrifft chimäre Oligonukleotide. Ein chimäres Oligonukleotid ist aus mindestens zwei verschiedenen Sequenzabschnitten aufgebaut, beispielsweise aus einem DNA-Abschnitt und einem modifizierten Abschnitt, z.B. einem PNA-Abschnitt und/oder einem PHONA-Abschnitt. Diese unterschiedlichen Abschnitte verleihen dem gesamten Oligonukleotid besondere Eigenschaften.

Eine besondere Form chimärer Oligonukleotide ist beispielsweise in Matteucci und Wagner, Nature 384 SUPP (1996) 20-22 beschrieben. Ein chimäres Oligonukleotid kann z.B.

1. eine sogenannte "Core Sequenz", die aus etwa sieben Nukleotiden besteht und die die RNase H aktivieren kann sowie
2. eine oder mehrere flankierende Sequenzen, welche die Affinität, Spezifität und/oder Nuklease-Stabilität des Oligonukleotids erhöhen, enthalten.

Beispielsweise kann die "Core Sequenz" an bestimmten Positionen modifizierte Internukleosid Brücken aufweisen, beispielsweise kann die „Core Sequenz“ Phosphorothioat und/oder Phosphodiester Brücken enthalten. Als flankierende Sequenzen eignen sich beispielsweise Sequenzen, bei denen das Zuckerphosphat Rückgrat (Ersatz einer oder mehrerer Zuckerphosphat Einheiten) und/oder β -D-2'-

SEQ ID NO. 57: 3'- CyCxGxGxTxAxGyGyA -5',

SEQ ID NO. 58: 3'- CyCyAxGxGxGxGxGyGyC -5' ist.

Die Sequenzen SEQ ID NO. 40 - SEQ ID NO. 58 entsprechen den oben genannten Sequenzen SEQ ID NO. 2 bis SEQ ID NO. 20, d.h. sie binden an die entsprechenden Sequenzabschnitte einer Tenascin-kodierenden Sequenz, wobei allerdings die genannten Modifikationen enthalten sind.

Die Erfindung betrifft Verfahren zur Herstellung der Oligonukleotide. Die beschriebenen Oligonukleotide können mit Hilfe verschiedener bekannter, chemischer Verfahren, z.B. unter Anwendung der Standard Phosphoramidit-Chemie unter Verwendung von Jod bzw. TED (Tetraethylthiuramdisulfid) als Oxidationsmittel, hergestellt werden. Dieses Verfahren ist z.B. in Eckstein, F. (1991) "Oligonukleotides and Analogues, A Practical Approach", IRL Press, Oxford beschrieben. Die Oligonukleotide können auch durch Verfahren hergestellt werden, die gegebenenfalls einen oder mehrere enzymatische Schritte enthalten.

Die Erfindung betrifft die Verwendung der Oligonukleotide. Die Oligonukleotide können zur Hybridisierung bzw. Bindung an Tenascin-kodierende (einzelssträngige und/oder doppelsträngige) Nukleinsäuren, beispielsweise DNA (z.B. Gene, cDNA) und/oder RNA (z.B. pre-mRNA, mRNA) verwendet werden. Insbesondere betrifft dies die Verwendung der Oligonukleotide zur Hybridisierung mit bzw. Bindung an Nukleinsäuren, die die Sequenz SEQ ID NO. 1 gemäß Tabelle 1 aufweisen bzw. mit Nukleinsäuren, die Teile dieser Sequenz aufweisen (beispielsweise Sequenzen, die für Tenascin Isoformen kodieren) bzw. mit Nukleinsäuren, deren Sequenz geringfügig von diesen Sequenzen abweicht (die z.B. eine oder mehrere Punktmutationen aufweisen).

Die Erfindung betrifft weiterhin die Verwendung der Oligonukleotide zur Modulation sowie zur ganzen oder teilweisen Inhibition der Expression von Tenascin bzw. verschiedener Tenascin Isoformen bzw. von Mutanten derselben, beispielsweise zur ganzen oder teilweisen Inhibition der Transkription und/oder der Translation.

Die Erfindung betrifft beispielsweise die Verwendung der Oligonukleotide als Antisense Oligonukleotide. Darüber hinaus können die Oligonukleotide als Hilfsmittel in der Molekularbiologie verwendet werden.

Die Erfindung betrifft weiterhin die Verwendung der Oligonukleotide als Arzneimittel und/oder Diagnostikum bzw. die Verwendung der Oligonukleotide zur Herstellung von Arzneimitteln und/oder Diagnostika. Insbesondere können die Oligonukleotide in Arzneimitteln, die zur Prävention und/oder Behandlung von Krankheiten, die mit der Expression bzw. einer Überexpression von Tenascin einhergehen, eingesetzt werden. Da die Expression von Tenascin normalerweise, d.h. z.B. beim gesunden Menschen räumlich und zeitlich begrenzt ist, kann ein Abweichen von dieser normalen räumlichen und zeitlichen Expression, als Überexpression angesehen werden. Weiterhin können die Oligonukleotide für in Diagnostischen Verfahren eingesetzt werden. Solche Diagnostischen Verfahren können z.B. zur Diagnose bzw. Früherkennung von Krankheiten eingesetzt, die mit einer abnormalen Expression (z.B. Überexpression) von Tenascin einhergehen werden.

Die Erfindung betrifft auch einen Testkit, der ein oder mehrere erfindungsgemäße Oligonukleotide und gegebenenfalls weitere Komponenten enthält. Solch ein Testkit kann beispielsweise in der Diagnostik und zur Vorsorge, beispielsweise von Hautkrebserkrankungen, eingesetzt werden.

Die Erfindung betrifft weiterhin die Verwendung der Oligonukleotide bzw. von Arzneimitteln, die diese Oligonukleotide enthalten, zur Behandlung von Krankheiten, bei denen Tenascin bzw. eine Überexpression von Tenascin ursächlich bzw. beteiligt ist.

Die Erfindung betrifft insbesondere die Verwendung der Oligonukleotide bzw. von Arzneimitteln, die diese Oligonukleotide enthalten, zur Behandlung und/oder Prävention von Krankheiten, bei denen eine Fehlsteuerung bzw. Störung der Einwanderung bzw. des Vorhandenseins bzw. der Einlagerung von Melanocyten in Epithelzellschichten, beispielsweise in Epithelzellschicht der Epidermis, der Aderhaut des Auges oder der Substantia nigra, zugrunde liegt bzw. beteiligt ist und

von Morbus Addison, Diabetes mellitus, perniziöser Anämie und/oder Schilddrüsendysfunktionen.

Die Erfindung betrifft insbesondere die Verwendung der Oligonukleotide bzw. von Arzneimitteln, die diese Oligonukleotide enthalten zur Behandlung und/oder Prävention von Vitiligo und anderen Depigmentierungskrankheiten bzw. Depigmentierungsstörungen (z.B. der Haut, Haare, Augen) beispielsweise Albinismus und/oder zur Behandlung von Psoriasis und/oder zur Behandlung von Krebs, z.B. zur Inhibitoren von Tumorwachstum und Tumormetastasierung, beispielsweise bei Melanomen und/oder zur Behandlung von Entzündungen, insbesondere als Entzündungshemmer und/oder zur Behandlung und/oder Prophylaxe kardiovaskulärer Erkrankungen, beispielsweise der Restenose.

Insbesondere betrifft die Erfindung die Verwendung der Oligonukleotide zur Behandlung von Vitiligo bzw. zur Herstellung von Arzneimitteln, die zur Behandlung von Vitiligo verwendet werden können. Die Erfindung betrifft darüber hinaus ganz allgemein (d.h. auch Oligonukleotide mit einer Länge von größer oder gleich 18 Nukleotiden) die Verwendung von Oligonukleotiden zur Behandlung von Vitiligo bzw. die Herstellung von Arzneimitteln, die zur Behandlung von Vitiligo verwendet werden können.

Die Erfindung betrifft weiterhin die Verwendung zur Behandlung von Vitiligo in Kombination mit bekannten therapeutischen Verfahren, beispielsweise in Kombination a) mit Photochemotherapie (PUVA), z.B. unter Verwendung von Methoxypsoralen, Phenylalanin und/oder Khellin und/oder b) mit der Transplantation von kultivierten Melanozyten ("epidermal grafting") und/oder c) mit einer Steroid-Behandlung und/oder d) mit einer Behandlung mit Plazenta-Extrakten und/oder e) mit einer Behandlung mit Pseudokatalase.

Die Erfindung betrifft weiterhin Verfahren zur Herstellung von Arzneimitteln (pharmazeutischen Zubereitungen). Zur Herstellung von Arzneimitteln werden ein oder mehrere verschiedene Oligonukleotide bzw. deren physiologisch verträgliche

Salze vermischt, wobei gegebenenfalls weitere pharmazeutische Träger- und/oder Zusatzstoffe zugegeben werden können.

Die Erfindung betrifft weiterhin pharmazeutische Zubereitungen (Arzneimittel), die ein oder mehrere verschiedene Oligonukleotide und/oder deren physiologisch verträgliche Salze sowie gegebenenfalls pharmazeutische Träger- und/oder Zusatzstoffe enthalten.

Das bzw. die Oligonukleotid(e) und/oder deren physiologisch verträgliche Salze können am Tier, bevorzugt am Säugetier, insbesondere am Menschen als Arzneimittel für sich allein, in Mischungen untereinander oder in Form von pharmazeutischen Zubereitungen verabreicht werden. Die Arzneimittel können eine topische, perkutane, parenterale und/oder enterale Anwendung gestatten. Die jeweils bevorzugte Anwendungsform hängt von den jeweils speziellen Gegebenheiten ab. Zur Behandlung von Vitiligo beispielsweise wird eine topische Anwendung, z.B. in Form von Salben, Lotionen oder Tinkturen, Emulsionen, Suspensionen bevorzugt. Ebenso hängt die Häufigkeit der Applikation von den individuellen Gegebenheiten ab. Zur Behandlung von Vitiligo kann beispielsweise eine topische Komposition ein bis zweimal am Tag auf die depigmentierte Hautstelle aufgetragen werden.

Arzneimittel bzw. pharmazeutische Zubereitungen können als aktiven Bestandteil eine wirksame Dosis mindestens eines Oligonukleotids und/oder eine Mischung mehrerer Oligonukleotide und gegebenenfalls zusätzliche, pharmazeutisch einwandfreie Träger- und/oder Zusatzstoffe enthalten. Eine pharmazeutische Zubereitung kann etwa 0,1 % (Gewichtsprozent) oder weniger bis etwa 90 % (Gewichtsprozent) oder mehr des therapeutisch wirksamen Oligonukleotids bzw. der pharmazeutisch wirksamen Oligonukleotide enthalten.

Die pharmazeutisch wirksame Dosis des jeweiligen Oligonukleotids bzw. eines Oligonukleotids, welches Bestandteil einer Mischung verschiedener Oligonukleotide

ist, kann innerhalb weiter Grenzen variieren und ist in jedem einzelnen Fall den individuellen Gegebenheiten anzupassen.

Die Herstellung der pharmazeutischen Zubereitungen kann in an sich bekannter Weise, z. B. beschrieben in Remingtons Pharmaceutical Sciences (1985), Mack Publ. Co., Easton, PA. durchgeführt werden, wobei gegebenenfalls pharmazeutisch inerte anorganische und/oder organische Trägerstoffe verwendet werden können. Für die Herstellung von Pillen, Tabletten, Dragees und/oder Hartgelatine kapseln können z.B. Lactose, Maisstärke und/oder Derivate derselben, Talk, Stearinsäure und/oder deren Salze verwendet werden. Als Trägerstoffe für Weichgelatine kapseln und/oder Suppositorien können z.B. Fette, Wachse, halbfeste und/oder flüssige Polyole, natürliche und/oder gehärtete Öle verwendet werden. Als Trägerstoffe für die Herstellung von Lösungen und/oder Sirupen können z.B. Wasser, Saccharose, Invertzucker, Glukose und/oder Polyole verwendet werden. Als Trägerstoffe für die Herstellung von Injektionslösungen können z.B. Wasser, Alkohole, Glycerin, Polyole und/oder pflanzliche Öle verwendet werden. Als Trägerstoffe für Mikrokapseln, Implantate und/oder Rods können beispielsweise Mischpolymerisate, z.B. aus Glykolsäure und Milchsäure verwendet werden. Darüber hinaus sind Liposomenformulierungen, die dem Fachmann bekannt sind (N. Weiner, Drug Develop Ind Pharm 15 (1989) 1523; "Liposome Dermatics, Springer Verlag 1992), beispielsweise HVJ-Liposomen (Hayashi, Gene Therapy 3 (1996) 878) geeignet. Die dermale Applikation kann beispielsweise auch unter Zuhilfenahme ionophoretischer Methoden und/oder mit Hilfe der Elektroporation erfolgen. Darüber hinaus können Lipofektine und/oder andere (Nukleinsäure- bzw. DNA-)Carriersysteme, beispielsweise solche, die in der Gentherapie Anwendung finden, verwendet werden. Insbesondere sind Systeme geeignet, mit deren Hilfe Oligonukleotide mit großer Effizienz in eukaryotische Zellen bzw. die Kerne eukaryotischer Zellen eingebracht werden können.

Eine pharmazeutische Zubereitung kann neben den Wirk- und Trägerstoffen noch Zusatzstoffe, wie z.B. Füllstoffe, Streck-, Spreng-, Binde-, Gleit-, Netz-, Stabilisierungs-, Emulgier-, Konservierungs-, Süß-, Färb-, Geschmacks- oder

Aromatisierungs-, Dickungs-, Verdünnungsmittel, Puffersubstanzen, ferner Lösungsmittel und/oder Lösungsvermittler und/oder Mittel zur Erzielung eines Depoteffekts, sowie Salze zur Veränderung des osmotischen Drucks, Überzugsmittel und/oder Antioxidantien enthalten. Sie können auch zwei oder mehrere verschiedene Oligonukleotide und/oder deren physiologisch verträgliche Salze enthalten sowie ferner neben mindestens einem Oligonukleotid einen oder mehrere andere therapeutisch wirksame Stoffe.

Beispiele

Beispiel 1: Oligonukleotidsynthese

Das Oligonukleotid wurde auf einem automatischen DNA Synthesizer (Applied Biosystems Model 380B oder 394) unter Anwendung der Standard Phosphoramidit-Chemie und Oxidation mit Jod synthetisiert (F. Eckstein, Ed "Oligonucleotides and Analogues, A Practical Approach", IRL Press, Oxford, 1991). Zur Einführung von Phosphorthioat-Brücken in gemischten Phosphorothioaten und Phosphodiester Oligonukleotid wurde anstelle von Jod mit TETD (Tetraethylthiuramdisulfid) oxidiert (Applied Biosystems User Bulletin 65). Nach Abspaltung vom festen Träger (CPG oder Tentagel) und Entfernung der Schutzgruppen mit konz. NH_3 bei 55°C (18h) wurde das Oligonukleotid zunächst durch Butanol-Fällung (Sawadogo, Van Dyke, Nucl. Acids Res. 19 (1991) 674) gereinigt. Das Natriumsalz wurde dann durch Ausfällung aus einer 0.5 M NaCl Lösung mit 2.5 Volumenteilen Ethanol erhalten.

Das Oligonukleotid wurde mit Hilfe der

a) Analytischen Gelelektrophorese (Gel: 20% Acrylamid, 8M Harnstoff; Laufpuffer: 454M Tris-borat Puffer, pH 7.0) und/oder

b) HPLC-Analyse (Säulenmaterial: Waters GenPak FAX; Gradient: CH_3CN (400ml), H_2O (1.6l), NaH_2PO_4 (3.1g), NaCl (11.7g), pH6.8 (0.1M an NaCl) nach CH_3CN

(400ml), H₂O (1.6l), NaH₂PO₄ (3.1g), NaCl (175.3g), pH6.8 (1.5M an NaCl))
und/oder

c) Kapillargelelektrophorese (Beckmann Kapillare eCAPTM, U100P Gel Column, 65 cm length, 100 mm I.D., window 15 cm from one end; Puffer: 140 µM Tris, 360mM Borsäure, 7M Harnstoff) und/oder

d) Elektrospray Massenspektroskopie
analysiert.

Die Analyse des Oligonukleotids ergab, daß dieses jeweils in einer Reinheit von größer 90% vorlag. Die Methoden zur Analyse von Oligonukleotiden sind z.B. in Schweiber und Engler "Analysis of oligonucleotides" (in "Antisense – from technology to therapy", a laboratory manual and textbook, Schlingensiepen et al. eds., Biol. Science, Vol. 6 (1997) p. 78-103) beschrieben.

Synthetisiertes Oligonukleotid:

ODN1 (Sequenz SEQ ID NO. 24): 3'- GsGsAGGTsGGTsACsCsCsC -5'

Beispiel 2: Herstellung einer pharmazeutischen Zubereitung

50 mg ODN 1 aus Beispiel 1 können z.B. mit 1g Dermatop[®] (Hoechst Aktiengesellschaft, Frankfurt am Main, Germany) Basiscreme eng vermischt und die Mischung bei Temperaturen < 10 °C aufbewahrt.

Beispiel 3:

Die Creme aus Beispiel 2 kann dann beispielsweise zweimal täglich (morgens und nachmittags bzw. abends) auf eine depigmentierte Hautstelle eines Vitiligo-Patienten aufgetragen werden.

Tabelle 1: Sequenz SEQ ID NO. 1:

Sequenz der humanen Tenascins cDNA nach A. Siri et al. Nucl. Acids Res. 19 (1991) 525-531.

GAATTCGCTA GAGCCCTAGA GCCCCAGCAG CACCCAGCCA AACCCACCTC CACCATGGGG	60
GCCATGACTC AGCTGTTGGC AGGTGTCTTT CTGCTTTCC TTGCCCTCGC TACCGAAGGT	120
GGGGTCCTCA AGAAAGTCAT CCGGCACAAG CGACAGAGTG GGGTGAACGC CACCCTGCCA	180
GAAGAGAACC AGCCAGTGGT GTTTAACCAC GTTTACAACA TCAAGCTGCC AGTGGGATCC	240
CAGTGTTCCG TGGATCTGGA GTCAGCCAGT GGGGAGAAAG ACCTGGCACC GCCTTCAGAG	300
CCCAGCGAAA GCTTTCAGGA GCACACAGTA GATGGGGAAA ACCAGATTGT CTTACACAT	360
CGCATCAACA TCCCCGCGG GGCCTGTGGC TGTGCCGAG CCCCTGATGT TAAGGAGCTG	420
CTGAGCAGAC TGGAGGAGCT GGAGAACCTG GTGTCTTCCC TGAGGGAGCA ATGTACTGCA	480
GGAGCAGGCT GCTGTCTCCA GCCTGCCACA GGCCGCTTGG ACACCAGGCC CTTCTGTAGC	540
GGTCGGGGCA ACTTCAGCAC TGAAGGATGT GGCTGTGTCT GCGAACCTGG CTGGAAAGGC	600
CCCAACTGCT CTGAGCCCGA ATGTCCAGGC AACTGTCACC TTCGAGGCCG GTGCATTGAT	660
GGGCAGTGCA TCTGTGACGA CGGCTTCACG GGCGAGGACT GCAGCCAGCT GGCTTGCCCC	720
AGCGACTGCA ATGACCAGGG CAAGTGCGTG AATGGAGTCT GCATCTGTTT CGAAGGCTAC	780
GCGGCTGACT GCAGCCGTGA AATCTGCCCA GTGCCCTGCA GTGAGGAGCA CGGCACATGT	840
GTAGATGGCT TGTGTGTGTG CCACGATGGC TTTGCAGGCG ATGACTGCAA CAAGCCTCTG	900
TGTCTCAACA ATTGCTACAA CCGTGGACGA TGCGTGGAGA ATGACTGCGT GTGTGATGAG	960
GGTTTCACGG GCGAAGACTG CAGTGAGCTC ATCTGCCCCA ATGACTGCTT CGACCGGGGC	1020
CGCTGCATCA ATGGCACCTG CTA CTGCGAA GAAGGCTTCA CAGGTGAAGA CTGCGGGAAA	1080
CCCACCTGCC CACATGCCTG CCACACCCAG GGCCGGTGTG AGGAGGGGCA GTGTGTATGT	1140

GATGAGGGCT	TTGCCGGTGT	GGACTGCAGC	GAGAAGAGGT	GTCTGTCTGA	CTGTCACAAT	1200
CGTGGCCGCT	GTGTAGACGG	GCGGTGTGAG	TGTGATGATG	GTTTCACTGG	AGCTGACTGT	1260
GGGGAGCTCA	AGTGTCCCAA	TGGCTGCAGT	GGCCATGGCC	GCTGTGTCAA	TGGGCAGTGT	1320
GTGTGTGATG	AGGGCTATAC	TGGGGAGGAC	TGCAGCCAGC	TACGGTGCCC	CAATGACTGT	1380
CACAGTCGGG	GCCGCTGTGT	CGAGGGCAAA	TGTGTATGTG	AGCAAGGCTT	CAAGGGCTAT	1440
GACTGCAGTG	ACATGAGCTG	CCCTAATGAC	TGTCACCAGC	ACGGCCGCTG	TGTGAATGGC	1500
ATGTGTGTTT	GTGATGACGG	CTACACAGGG	GAAGACTGCC	GGGATCGCCA	ATGCCCCAGG	1560
GACTGCAGCA	ACAGGGGCCT	CTGTGTGGAC	GGACAGTGCG	TCTGTGAGGA	CGGCTTCACC	1620
GGCCCTGACT	GTGCAGAACT	CTCCTGTCCA	AATGACTGCC	ATGGCCAGGG	TCGCTGTGTG	1680
AATGGGCAGT	GCGTGTGCCA	TGAAGGATTT	ATGGGCAAAG	ACTGCAAGGA	GCAAAGATGT	1740
CCCAGTGACT	GTCATGGCCA	GGGCCGCTGC	GTGGACGGCC	AGTGCATCTG	CCACGAGGGC	1800
TTCACAGGCC	TGGACTGTGG	CCAGCACTCC	TGCCCCAGTG	ACTGCAACAA	CTTAGGACAA	1860
TGCGTCTCGG	GCCGCTGCAT	CTGCAACGAG	GGCTACAGCG	GAGAAGACTG	CTCAGAGGTG	1920
TCTCCTCCCA	AAGACCTCGT	TGTGACAGAA	GTGACGGAAG	AGACGGTCAA	CCTGGCCTGG	1980
GACAATGAGA	TGCGGGTCAC	AGAGTACCTT	GTCGTGTACA	CGCCCACCCA	CGAGGGTGGT	2040
CTGGAAATGC	AGTTCCGTGT	GCCTGGGGAC	CAGACGTCCA	CCATCATCCG	GGAGCTGGAG	2100
CCTGGTGTGG	AGTACTTTAT	CCGTGTATTT	GCCATCCTGG	AGAACAAGAA	GAGCATTCCT	2160
GTCAGCGCCA	GGGTGGCCAC	GTACTIONCT	GCACCTGAAG	GCCTGAAATT	CAAGTCCATC	2220
AAGGAGACAT	CTGTGGAAGT	GGAGTGGGAT	CCTCTAGACA	TTGCTTTTGA	AACCTGGGAG	2280
ATCATCTTCC	GGAATATGAA	TAAAGAAGAT	GAGGGAGAGA	TCACCAAAAG	CCTGAGGAGG	2340
CCAGAGACCT	CTTACCGGCA	AACTGGTCTA	GCTCCTGGGC	AAGAGTATGA	GATATCTCTG	2400
CACATAGTGA	AAAACAATAC	CCGGGGCCCT	GGCCTGAAGA	GGGTGACCAC	CACACGCTTG	2460

GATGCCCCCA	GCCAGATCGA	GGTGAAAGAT	GTCACAGACA	CCACTGCCTT	GATCACCTGG	2520
TTCAAGCCCC	TGGCTGAGAT	CGATGGCATT	GAGCTGACCT	ACGGCATCAA	AGACGTGCCA	2580
GGAGACCGTA	CCACCATCGA	TCTCACAGAG	GACGAGAACC	AGTACTCCAT	CGGGAACCTG	2640
AAGCCTGACA	CTGAGTACGA	GGTGTCCCTC	ATCTCCCGCA	GAGGTGACAT	GTCAAGCAAC	2700
CCAGCCAAAG	AGACCTTCAC	AACAGGCCTC	GATGCTCCCA	GGAATCTTCG	ACGTGTTTCC	2760
CAGACAGATA	ACAGCATCAC	CCTGGAATGG	AGGAATGGCA	AGGCAGCTAT	TGACAGTTAC	2820
AGAATTAAGT	ATGCCCCCAT	CTCTGGAGGG	GACCACGCTG	AGGTTGATGT	TCCAAAGAGC	2880
CAACAAGCCA	CAACCAAAAC	CACACTCACA	GGTCTGAGGC	CGGGAACCTGA	ATATGGGATT	2940
GGAGTTTCTG	CTGTGAAGGA	AGACAAGGAG	AGCAATCCAG	CGACCATCAA	CGCAGCCACA	3000
GAGTTGGACA	CGCCCAAGGA	CCTTCAGGTT	TCTGAAACTG	CAGAGACCAG	CCTGACCCTG	3060
CTCTGGAAGA	CACCGTTGGC	CAAATTTGAC	CGCTACCGCC	TCAATTACAG	TCTCCCCACA	3120
GGCCAGTGGG	TGGGAGTGCA	GCTTCCAAGA	AACACCACTT	CCTATGTCCT	GAGAGGCCTG	3180
GAACCAGGAC	AGGAGTACAA	TGTCCTCCTG	ACAGCCGAGA	AAGGCAGACA	CAAGAGCAAG	3240
CCCGCACGTG	TGAAGGCATC	CACTGAACAA	GCCCCTGAGC	TGGAAAACCT	CACCGTGACT	3300
GAGGTTGGCT	GGGATGGCCT	CAGACTCAAC	TGGACCGCGG	CTGACCAGGC	CTATGAGCAC	3360
TTTATCATTC	AGGTGCAGGA	GGCCAACAAG	GTGGAGGCAG	CTCGGAACCT	CACCGTGCCT	3420
GGCAGCCTTC	GGGCTGTGGA	CATACCGGGC	CTCAAGGCTG	CTACGCCTTA	TACAGTCTCC	3480
ATCTATGGGG	TGATCCAGGG	CTATAGAACA	CCAGTGCTCT	CTGCTGAGGC	CTCCACAGGG	3540
GAAACTCCCA	ATTGTTGGGA	GGTCGTGGTG	GCCGAGGTGG	GCTGGGATGC	CCTCAAACCTC	3600
AACTGGACTG	CTCCAGAAGG	GGCCTATGAG	TACTTTTTTCA	TTCAGGTGCA	GGAGGCTGAC	3660
ACAGTAGAGG	CAGCCCAGAA	CCTCACCGTC	CCAGGAGGAC	TGAGGTCCAC	AGACCTGCCT	3720
GGGCTCAAAG	CAGCCACTCA	TTATACCATC	ACCATCCGCG	GGGTCACTCA	GGACTTCAGC	3780

ACAACCCCTC TCTCTGTTGA AGTCTTGACA GAGGAGGTTT CAGATATGGG AAACCTCACA 3840
GTGACCGAGG TTAGCTGGGA TGCTCTCAGA CTGAACTGGA CCACGCCAGA TGGAACCTAT 3900
GACCAGTTTA CTATTCAGGT CCAGGAGGCT GACCAGGTGG AAGAGGCTCA CAATCTCAGC 3960
GTTCTTGCCA GCCTGCGTTC CATGGAAATC CCAGGCCTCA GGGCTGGCAC TCCTTACACA 4020
GTCACCCCTGC ACGGCGAGGT CAGGGGCCAC AGCACTCGAC CCCTTGCTGT AGAGGTCGTC 4080
CAGTGGGACG TGCCGCTCCA GTCCCCGGTG TCGTGAGCTG GGAACGACA TCTCCAGCAG 4140
ACAGAGGATC TCCCACAGCT GGGAGATTTA GCCGTGTCTG AGGTTGGCTG GGATGGCCTC 4200
AGACTCAACT GGACCGCAGC TGACAATGCC TATGAGCACT TTGTCATTCA GGTGCAGGAG 4260
GTCAACAAAG TGGAGGCAGC CCAGAACCTC ACGTTGCCTG GCAGCCTCAG GGCTGTGGAC 4320
ATCCCCGGCC TCGAGGCTGC CACGCCTTAT AGAGTCTCCA TCTATGGGGT GATCCGGGGC 4380
TATAGAACAC CAGTACTCTC TGCTGAGGCC TCCACAGCCA AAGAACCTGA AATTGGAAAC 4440
TTAAATGTTT CTGACATAAC TCCCGAGAGC TTCAATCTCT CCTGGATGGC TACCGATGGG 4500
ATCTTCGAGA CCTTTACCAT TGAAATTATT GATTCCAATA GGTTGCTGGA GACTGTGGAA 4560
TATAATATCT CTGGTGCTGA ACGAACTGCC CATATCTCAG GGCTACCCCC TAGTACTGAT 4620
TTTATTGTCT ACCTCTCTGG ACTTGCTCCC AGCATCCGGA CCAAACCAT CAGTGCCACA 4680
GCCACGACAG AGGCCCTGCC CCTTCTGGAA AACCTAACCA TTTCCGACAT TAATCCCTAC 4740
GGGTTACAG TTTCTTGAT GGCATCGGAG AATGCCTTTG ACAGCTTTCT AGTAACGGTG 4800
GTGGATTCTG GGAAGCTGCT GGACCCCCAG GAATTCACAC TTTCAGGAAC CCAGAGGAAG 4860
CTGGAGCTTA GAGGCCTCAT AACTGGCATT GGCTATGAGG TTATGGTCTC TGGCTTCACC 4920
CAAGGGCATC AAACCAAGCC CTTGAGGGCT GAGATTGTTA CAGAAGCCGA ACCGGAAGTT 4980
GACAACCTTC TGGTTTCAGA TGCCACCCCA GACGGTTTCC GTCTGTCCTG GACAGCTGAT 5040
GAAGGGGTCT TCGACAATTT TGTCTCAAA ATCAGAGATA CAAAAAGCA GTCTGAGCCA 5100

CTGGAAATAA CCCTACTTGC CCCCGAACGT ACCAGGGACA TAACAGGTCT CAGAGAGGCT	5160
ACTGAATACG AAATTGAACT CTATGGAATA AGCAAAGGAA GCGATCCCA GACAGTCAGT	5220
GCTATAGCAA CAACAGCCAT GGGCTCCCA AAGGAAGTCA TTTCTCAGA CATCACTGAA	5280
AATTCGGCTA CTGTCAGCTG GAGGGCACCC ACGGCCCAAG TGGAGAGCTT CCGGATTACC	5340
TATGTGCCCC TTACAGGAGG TACACCCTCC ATGGTAACTG TGGACGGAAC CAAGACTCAG	5400
ACCAGGCTGG TGAAACTCAT ACCTGGCGTG GAGTACCTTG TCAGCATCAT CGCCATGAAG	5460
GGCTTTGAGG AAAGTGAACC TGTCTCAGGG TCATTACCA CAGCTCTGGA TGGCCCATCT	5520
GGCCTGGTGA CAGCCAACAT CACTGACTCA GAAGCCTTGG CCAGGTGGCA GCCAGCCATT	5580
GCCACTGTGG ACAGTTATGT CATCTCCTAC ACAGGCGAGA AAGTGCCAGA AATTACACGC	5640
ACGGTGTCCG GGAACACAGT GGAGTATGCT CTGACCGACC TCGAGCCTGC CACGGAATAC	5700
ACACTGAGAA TCTTTGCAGA GAAAGGGCCC CAGAAGAGCT CAACCATCAC TGCCAAGTTC	5760
ACAACAGACC TCGATTCTCC AAGAGACTTG ACTGCTACTG AGGTTTCAGTC GGAAACTGCC	5820
CTCCTTACCT GGCGACCCCC CCGGGCATCA GTCACCGGTT ACCTGCTGGT CTATGAATCA	5880
GTGGATGGCA CAGTCAAGGA AGTCATTGTG GGTCCAGATA CCACCTCCTA CAGCCTGGCA	5940
GACCTGAGCC CATCCACCCA CTACACAGCC AAGATCCAGG CACTCAATGG GCCCCTGAGG	6000
AGCAATATGA TCCAGACCAT CTTCAACCACA ATTGGACTCC TGTACCCCTT CCCCAGGAC	6060
TGCTCCCAAG CAATGCTGAA TGGAGACACG ACCTCTGGCC TCTACACCAT TTATCTGAAT	6120
GGTGATAAGG CTCAGGCGCT GGAAGTCTTC TGTGACATGA CCTCTGATGG GGGTGGATGG	6180
ATTGTGTTCC TGAGACGCAA AAACGGACGC GAGAACTTCT ACCAAAACTG GAAGGCATAT	6240
GCTGCTGGAT TTGGGGACCG CAGAGAAGAA TTCTGGCTTG GGCTGGACAA CCTGAACAAA	6300
ATCACAGCCC AGGGGCAGTA CGAGCTCCGG GTGGACCTGC GGGACCATGG GGAGACAGCC	6360
TTTGCTGTCT ATGACAAGTT CAGCGTGGGA GATGCCAAGA CTCGCTACAA GCTGAAGGTG	6420

GAGGGGTACA GTGGGACAGC AGGTGACTCC ATGGCCTACC ACAATGGCAG ATCCTTCTCC	6480
ACCTTTGACA AGGACACAGA TTCAGCCATC ACCAACTGTG CTCTGTCTAC AAGGGGCTTC	6540
TGGTACAGGA ACTGTCACCG TGTCAACCTG ATGGGGAGAT ATGGGGACAA TAACCACAGT	6600
CAGGGCGTTA ACTGGTTCCA CTGGAAGGGC CACGAACACT CAATCCAGTT TGCTGAGATG	6660
AAGCTGAGAC CAAGCAACTT CAGAAATCTT GAAGGCAGGC GCAAACGGGC ATAAATTGGA	6720
GGGACCACTG GGTGAGAGAG GAATAAGGCG GCCCAGAGCG AGGAAAGGAT TTTACCAAAG	6780
CATCAATACA ACCAGCCCAA CCATCGGTCC ACACCTGGGC ATTTGGTGAG AATCAAAGCT	6840
GACCATGGAT CCCTGGGGCC AACGGCAACA GCATGGGCCT CACCTCCTCT GTGATTTCTT	6900
TCTTTGCACC AAAGACATCA GTCTCCAACA TGTTTCTGTT TTGTTGTTG ATTCAGCAAA	6960
AATCTCCCAG TGACAACATC GCAATAGTTT TTTACTTCTC TTAGGTGGCT CTGGGATGGG	7020
AGAGGGGTAG GATGTACAGG GGTAGTTTGT TTTAGAACCA GCCGTATTTT ACATGAAGCT	7080
GTATAATTAA TTGTCATTAT TTTTGTTAGC AAAGATTAAA TGTGTCATTG GAAGCCATCC	7140
CTTTTTTTTAC ATTTCATACA ACAGAAACCA GAAAAGCAAT ACTGTTTCCA TTTTAAGGAT	7200
ATGATTAATA TTATTAATAT AATAATGATG ATGATGATGA TGAAAACTAA GGATTTTTTCA	7260
AGAGATCTTT CTTTCCAAAA CATTTCTGGA CAGTACCTGA TTGTATTTTT TTTTAAATA	7320
AAAGCACAAG TACTTTTGAA AAAAAA	7346

Patentansprüche:

1. Oligonukleotid, das an eine Nukleinsäure, die für eine der Isoformen humanen Tenascins oder Teile derselben kodiert, bindet und deren Expression inhibiert, wobei das Oligonukleotid eine Länge von 7 bis 15 Nukleotideinheiten aufweist und wobei das Oligonukleotid gegebenenfalls modifiziert sein kann sowie die physiologisch verträglichen Salze des Oligonukleotids.
2. Oligonukleotid nach Anspruch 1, wobei das Oligonukleotid an einen Bereich der Nukleinsäure bindet, der
 - a) einen Teil des 5'-nichtkodierenden Bereichs und/oder den Translationsstart oder
 - b) den Translationsstart und/oder einen Teil des kodierenden Bereichs oder
 - c) einen Teil des kodierenden Bereichs und/oder einen Teil des 3'-nichtkodierenden Bereichsumfaßt.
3. Oligonukleotid nach Anspruch 1, wobei das Oligonukleotid eine der Sequenzen SEQ ID NO. 2 bis SEQ ID NO. 20 hat, wobei SEQ ID NO. 2 bis SEQ ID NO. 20 folgende Bedeutung haben:

SEQ. ID NO. 2: 3'- GGTTTGGGTGGAGGTGG -5'
SEQ. ID NO. 3: 3'- GGAGGTGGTACCCCCGG -5'
SEQ. ID NO. 4: 3'- GGTGGTACCCCCGG -5'
SEQ. ID NO. 5: 3'- GGAGGTGGTACCCC -5'
SEQ. ID NO. 6: 3'- AGAAAGAACGAAAGGAA -5'
SEQ. ID NO. 7: 3'- GGAGGTGGTACC -5'
SEQ. ID NO. 8: 3'- GGAGCGATGGCTTCCA -5'
SEQ. ID NO. 9: 3'- AAAGGAACGGGAGCG -5'
SEQ. ID NO. 10: 3'- GGTCGGTTTGGGTGG -5'

SEQ. ID NO. 11: 3'- CTTACAGGTCCGTTGA -5'
SEQ. ID NO. 12: 3'- GGCCGTGTTGCTGT -5'
SEQ. ID NO. 13: 3'- TCACCCCTCTTTCTGG -5'
SEQ. ID NO. 14: 3'- GGACACCGACACGG -5'
SEQ. ID NO. 15: 3'- AACGGGAGCGATGG -5'
SEQ. ID NO. 16: 3'- ATCTCGGGGTCGTC -5'
SEQ. ID NO. 17: 3'- AAAGAACGAAAGGAA -5'
SEQ. ID NO. 18: 3'- GGTGGTACCCC -5'
SEQ. ID NO. 19: 3'- CCCGGTACTGA -5'
SEQ. ID NO. 20: 3'- CCACAGAAAGAAC -5'

4. Oligonukleotid nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 3, wobei das Oligonukleotid eine oder mehrere Modifikationen aufweist, die an bestimmten Nukleosid Positionen und/oder Internukleosid Brücken lokalisiert sind.

5. Oligonukleotid nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 4, wobei die chemischen Modifikationen unabhängig voneinander ausgewählt werden können aus der Reihe der chemischen Modifikationen a) bis h), wobei

- a) den Ersatz einer Phosphorsäurediester Internukleosid-Brücke lokalisiert ist durch eine modifizierte Phospho-Brücke,
- b) den Ersatz einer Phosphorsäurediester Internukleosid-Brücke durch eine "Dephospho"-Brücke,
- c) den Ersatz einer Zuckerphosphat-Einheit durch eine andere Einheit,
- d) den Ersatz einer β -D-2'-Desoxyribose-Einheit durch eine modifizierte Zuckereinheit,
- e) die Modifikation beziehungsweise den Ersatz einer natürlichen Nukleosid-Base, durch eine modifizierte Nukleosid-Base,
- f) die Konjugation des Oligonukleotids mit einem Molekül, welches die Eigenschaften des Oligonukleotids an eine spezielle Anforderung anpaßt,

g) die Konjugation des Oligonukleotids an ein 2'5'-verbundenes Oligoadenylat oder ein Derivat davon, wobei die Konjugation des 2'5'-verbundenen Oligoadenylats oder eines Derivats davon gegebenenfalls über einen Linker erfolgt, und

h) die Einführung einer 3'-3'-Inversion und/oder 5'-5'-Inversion am 3'- beziehungsweise 5'- Ende des Oligonukleotids, bedeuten.

6. Oligonukleotid nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 5, wobei das Oligonukleotid eine oder mehrere chemische Modifikationen enthält, die unabhängig voneinander ausgewählt werden können aus der Reihe der chemischen Modifikationen a) bis h), wobei

a) den Ersatz einer Phosphorsäurediester Internukleosid-Brücke durch eine modifizierte Phosphobrücke bedeutet,

wobei eine modifizierte Phosphobrücke eine Phosphorothioat-, Phosphorodithioat-, $\text{NR}^1\text{R}^{1'}$ -Phosphoramidat-, Boranophosphat-, Phosphat-(C_1 - C_{21})-O-Alkylester-, Phosphat-[(C_6 - C_{12})Aryl-(C_1 - C_{21})-O-Alkyl]ester-, (C_1 - C_8)Alkylphosphonat- oder (C_6 - C_{12})-Arylphosphonat-Brücke ist,

wobei

R^1 und $\text{R}^{1'}$ unabhängig voneinander ausgewählt werden aus der Reihe enthaltend Wasserstoff, (C_1 - C_{18})-Alkyl, (C_6 - C_{20})-Aryl, (C_6 - C_{14})-Aryl-(C_1 - C_8)-alkyl oder

R^1 und $\text{R}^{1'}$ zusammen mit dem sie tragenden Stickstoffatom einen 5-6-gliedrigen heterocyclischen Ring bilden, der zusätzlich ein weiteres Heteroatom aus der Reihe O, S, N enthalten kann,

b) den Ersatz einer Phosphorsäurediester Internukleosid-Brücke durch eine "Dephospho"-Brücke bedeutet,

wobei eine "Dephospho-Brücken" eine Formacetal-, 3'-Thioformacetal-, Methylhydroxylamin-, Oxim-, Methylendimethylhydrazo-, Dimethylensulfon- oder Silyl-Brücke ist.

c) den vollständigen oder teilweisen Ersatz des Zuckerphosphat-Rückgrats (Ersatz von Zucker-Phosphat-Einheiten) durch andere Einheiten bedeutet,

wobei eine andere Einheit geeignet ist, ein "Morpholin-Derivat"-Oligomer, eine Polyamid Nukleinsäure ("PNA") oder eine Phosphomonosäureester Nukleinsäure aufzubauen ,

c) den Ersatz einer β -D-2'-Desoxyribose-Einheit durch eine modifizierte Zuckereinheit bedeutet,

wobei eine modifizierte Zuckereinheit eine α -D-2'-Desoxyribose, L-2'-Desoxyribose, 2'-F-2'-Desoxyribose, 2'-O-(C₁-C₆)Alkyl-Ribose, 2'-O-(C₂-C₆)Alkenyl-Ribose, 2'-[O-(C₁-C₆)Alkyl-O-(C₁-C₆)Alkyl]-Ribose, 2'-NH₂-2'-desoxyribose, β -D-Xylofuranose, α -Arabinofuranose, 2,4-Dideoxy- β -D-erythro-hexo-pyranose, ein carbozyklisches Zuckeranalogon, ein offenkettiges Zuckeranalogon oder ein Bicyclo-Zuckeranalogon ist,

d) den Ersatz einer natürlichen Nukleosid-Base durch eine modifizierte Nukleosid-Base bedeutet,

wobei eine modifizierte Nukleosid-Base 5-(Hydroxymethyl)uracil, 5-Aminouracil, Pseudouracil, Dihydrouracil, 5-(C₁-C₆)-Alkyl-uracil, 5-(C₂-C₆)-Alkenyl-uracil, 5-(C₂-C₆)-Alkyl-uracil, 5-(C₁-C₆)-Alkyl-cytosin, 5-(C₂-C₆)-Alkenyl-cytosin, 5-(C₂-C₆)-Alkyl-cytosin, 5-Fluoruracil, 5-Fluorcytosin, 5-Chloruracil, 5-Chlorcytosin, 5-Bromuracil, 5-Bromcytosin, ein 7-Deaza-7-substituiertes Purin ,oder ein 7-Deaza-8-substituiertes Purin ist,

e) die Konjugation mit einem Molekül bedeutet,

wobei das Molekül ein Poly-Lysin, Interkalator, fluoreszierendes Molekül, Cross-Linker, lipophiles Molekül, Lipid, Steroid, Vitamin, Polyethylenglykol, Oligoethylenglykol, (C₁₂-C₁₈)-Alkyl-Phosphatdiester oder -O-CH₂-CH(OH)-O-(C₁₂-C₁₈)-Alkyl-Gruppe ist,

f) die Konjugation an ein 2'5'-verbundenes Oligoadenylat oder ein Derivat desselben bedeutet,

wobei ein 2'5'-verbundenes Oligoadenylat oder ein Derivat desselben ein 2'5'-verbundenes Triadenylat, 2'5'-verbundenes Tetraadenylat, 2'5'-

verbundenes Pentaadenylat oder Cordycepin (2'5'-verbundenes 3'-Deoxyadenylat) ist,

wobei die Konjugation gegebenenfalls über einen Linker erfolgt und

wobei das 5'-Ende des 2'5'-verbundenen Oligoadenylats gegebenenfalls eine Phosphat-, Diphosphat- oder Triphosphatgruppe enthält und

g) die Einführung einer 3'-3'- und/oder 5'-5'-Inversion am 3' und/oder am 5'-Ende des Oligonukleotids bedeutet.

7. Oligonukleotid nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 6, wobei entweder

- a) nur bestimmte Phosphodiester Internukleosid-Brücken oder
- b) alle Phosphodiester Internukleosid-Brücken

durch modifiziert sind.

8. Oligonukleotid nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 7, wobei 1 - 5 endständige Internukleosid-Brücken am 5'-und/oder am 3'-Ende des Oligonukleotids modifiziert sind.

9. Oligonukleotid nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 8, wobei die am 3'- und/oder 5'-Ende von nicht endständigen Nukleosiden, die eine Pyrimidin Base enthalten, lokalisierten Internukleosid-Brücken modifiziert sind.

10. Oligonukleotid nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 9, wobei das Oligonukleotid eine Sequenz ausgewählt aus der Reihe der Sequenzen SEQ ID NO. 21 bis SEQ ID NO. 39 hat, wobei die Sequenzen SEQ ID NO. 21 bis SEQ ID NO. 39 folgende Bedeutung haben:

SEQ ID NO. 21: 3'- GsGsTsTsTGGGTsGGAGGsTsGsG -5',

SEQ ID NO. 22: 3'- GsGsAsGGTsGGTsACsCCsCCsGsG -5',

SEQ ID NO. 23: 3'- GsGsTGGTsACsCsCCsCsGsG -5',

SEQ ID NO. 24: 3'- GsGsAGGTsGGTsACsCsCsC -5',

SEQ ID NO. 25: 3'- AsGsAAAGAAAsCsGAAAGGsAsA -5'.

- SEQ ID NO. 26: 3'- GsGsAGGTsGGTsAsCsC -5',
 SEQ ID NO. 27: 3'- GsGsAGCsGATsGGCsTsTsCsCsA -5',
 SEQ ID NO. 28: 3'- AsAsAGGAACsGGGAGsCsG -5',
 SEQ ID NO. 29: 3'- GsGsTCGGTsTsTGGGTsGsG -5',
 SEQ ID NO. 30: 3'- CsTsTACAGGTsCsCGTsTsGsA -5',
 SEQ ID NO. 31: 3'- GsGsCsCGsTGTsTCGCsTsGsT -5',
 SEQ ID NO. 32: 3'- TsCsACsCCsCTsCsTTsTsCsTsGsG -5',
 SEQ ID NO. 33: 3'- GsGsAsCACsCGACsACsGsG -5',
 SEQ ID NO. 34: 3'- AsAsCsGGGAGCGATsGsG -5',
 SEQ ID NO. 35: 3'- AsTsCsTCGGGGTsCsGsTsC -5',
 SEQ ID NO. 36: 3'- AsAsAGAACsGAAAGGsAsA -5',
 SEQ ID NO. 37: 3'- GsGsTGGTsACsCsCsC -5',
 SEQ ID NO. 38: 3'- CsCsCsGGTsACsTsGsA -5' und
 SEQ ID NO. 39: 3'- CsCsAsCAGAAAGsAsAsC -5',

wobei "s" die Position einer modifizierten Internukleosid-Brücke angibt.

11. Oligonukleotid nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 8, wobei das Oligonukleotid eine der Sequenzen SEQ ID NO. 40 bis SEQ ID NO. 58 hat, wobei die Sequenzen SEQ ID NO. 40 bis SEQ ID NO. 58 folgende Bedeutung haben

- SEQ ID NO. 40: 3'- GyGyTyTyTyGxGxGxTxGxGxAxGyGyTyGyG -5',
 SEQ ID NO. 41: 3'- GyGyAyGyGyTxGxGxTxAxCxCxCyCyGyG -5',
 SEQ ID NO. 42: 3'- GyGyTxGxGxTxAxCxCxCxCyCyGyG -5',
 SEQ ID NO. 43: 3'- GyGyAyGyGxTxGxGxTxAxCyCyCyC -5',
 SEQ ID NO. 44: 3'- AyGyAyAxAxGxAxAxCxGxAxAxGyGyAyA -5',
 SEQ ID NO. 45: 3'- GyGyAxGxGxTxGxGxTxAyCyC -5',
 SEQ ID NO. 46: 3'- GyGyAxGxCxGxTxGyGyCyTyTyCyCyA -5',
 SEQ ID NO. 47: 3'- AyAyAyGxGxAxAxCxGxGyGyAyGyCyG -5',
 SEQ ID NO. 48: 3'- GyGyTyCxGxGxTxTxTxGxGyGyTyGyG -5',
 SEQ ID NO. 49: 3'- CyTyTyAxCxAxGxGxTxCxCxGyTyTyGyA -5',

SEQ ID NO. 50: 3'- GyGyCyCxGxTxGxTxTxCxGyCyTyGyT -5',
SEQ ID NO. 51: 3'- TyCyAyCxCxCxTxTxTyTyCyTyGyG -5',
SEQ ID NO. 52: 3'- GyGyAyCxAxCxGxGxGxGxAyCyGyG -5',
SEQ ID NO. 53: 3'- AyAyCyGxGxGxGxGxGxGxAyTyGyG -5',
SEQ ID NO. 54: 3'- AyTyCyTxCxGxGxGxGxTxTxGyTyC -5',
SEQ ID NO. 55: 3'- AyAyAyGxAxAxCxGxAxAxAxGyGyAyA -5',
SEQ ID NO. 56: 3'- GyGyTxGxGxTxAxCxCyCyC -5',
SEQ ID NO. 57: 3'- CyCxCxGxGxTxAxCyTyGyA -5' und
SEQ ID NO. 58: 3'- CyCyAxCxAxGxAxAxAxGyAyAyC -5',

wobei

"x" unabhängig voneinander für eine Phosphodiester Internukleosid-Brücke oder eine modifizierte Internukleosid-Brücke steht und

"y" unabhängig voneinander für den Ersatz einer Zuckerphosphat Einheit oder einer β -D-2'-Deoxyriboseeinheit steht, wobei die modifizierte β -D-2'-Deoxyriboseeinheit am 3'-Ende von „y“ lokalisierte ist.

12. Oligonukleotid nach Anspruch 11, wobei „y“ für 2'-O-Methyl-, 2'-O-Propyl-, 2'-Methoxyethoxy-ribose oder eine PNA Einheit steht.

13. Verwendung eines Oligonukleotids nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 12 zur Inhibition der Expression von Tenascin.

14. Verwendung eines Oligonukleotids nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 12 als Werkzeug in der Molekularbiologie.

15. Verwendung eines Oligonukleotids nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 12 als Diagnostikum.

16. Verwendung eines Oligonukleotids nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 12 als Arzneimittel.

17. Verwendung eines Oligonukleotids nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 12 zur Herstellung eines Arzneimittels.
18. Arzneimittel enthaltend eines oder mehrere Oligonukleotide nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 12 sowie gegebenenfalls einen oder mehrere pharmazeutische Träger- und/oder Zusatzstoffe.
19. Verwendung eines Arzneimittels nach Anspruch 18 in Kombination mit Photochemotherapie und/oder der Transplantation von kultivierten Melanocyten und/oder der Behandlung mit Steroiden und/oder der Behandlung mit Plazenta-Extrakten.
20. Verfahren zur Herstellung eines Arzneimittels, wobei eine wirksame Dosis eines oder mehrerer Oligonukleotide nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 12 mit einem oder mehreren pharmazeutischen Träger- und/oder Zusatzstoffen gemischt wird.
21. Verfahren zur Herstellung eines Oligonukleotids nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 12, wobei das Oligonukleotid chemisch an einer Festphase synthetisiert wird.
22. Diagnostikum enthaltend ein oder mehrere Oligonukleotide nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 12.
23. Testkit enthalten ein oder mehrere Oligonukleotide nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 12.

SEQUENZPROTOKOLL

(1) ALLGEMEINE ANGABEN:

(i) ANMELDER:

(A) NAME: Hoechst Marion Roussel Deutschland GmbH
 (B) STRASSE: -
 (C) ORT: Frankfurt
 (D) BUNDESLAND: -
 (E) LAND: Deutschland
 (F) POSTLEITZAHL: 65926
 (G) TELEFON: 069-305-7072
 (H) TELEFAX: 069-35-7175
 (I) TELEX: -

(ii) BEZEICHNUNG DER ERFINDUNG: Antisense Oligonukleotide gegen Tenascin zur Behandlung von Vitiligo

(iii) ANZAHL DER SEQUENZEN: 58

(iv) COMPUTER-LESBARE FASSUNG:

(A) DATENTRÄGER: Floppy disk
 (B) COMPUTER: IBM PC compatible
 (C) BETRIEBSSYSTEM: PC-DOS/MS-DOS
 (D) SOFTWARE: PatentIn Release #1.0, Version #1.30 (EPA)

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 1:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÄNGE: 7346 Basenpaare
 (B) ART: Nukleinsäure
 (C) STRANGFORM: Einzelstrang
 (D) TOPOLOGIE: linear

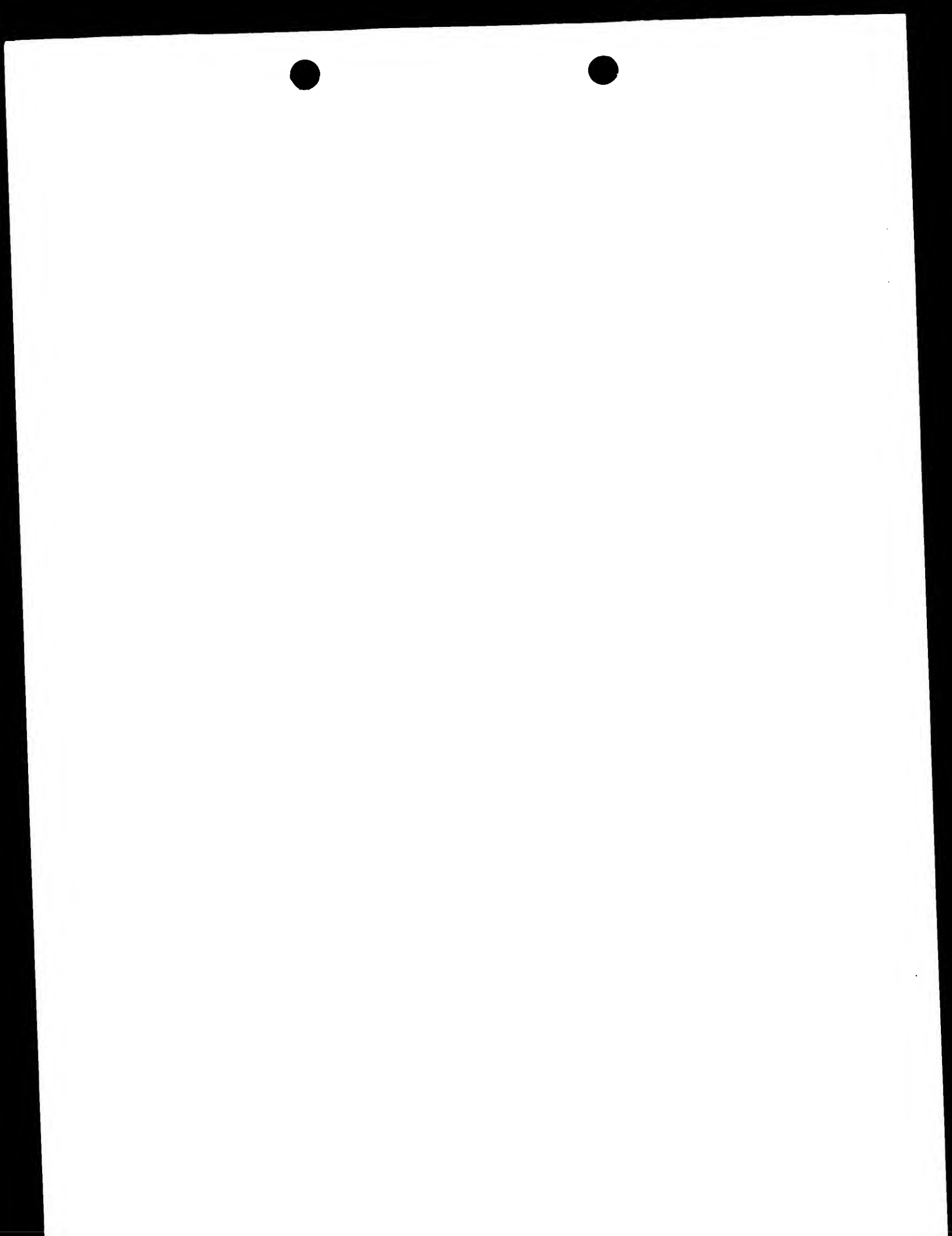
(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNS (genomisch)

(ix) MERKMAL:

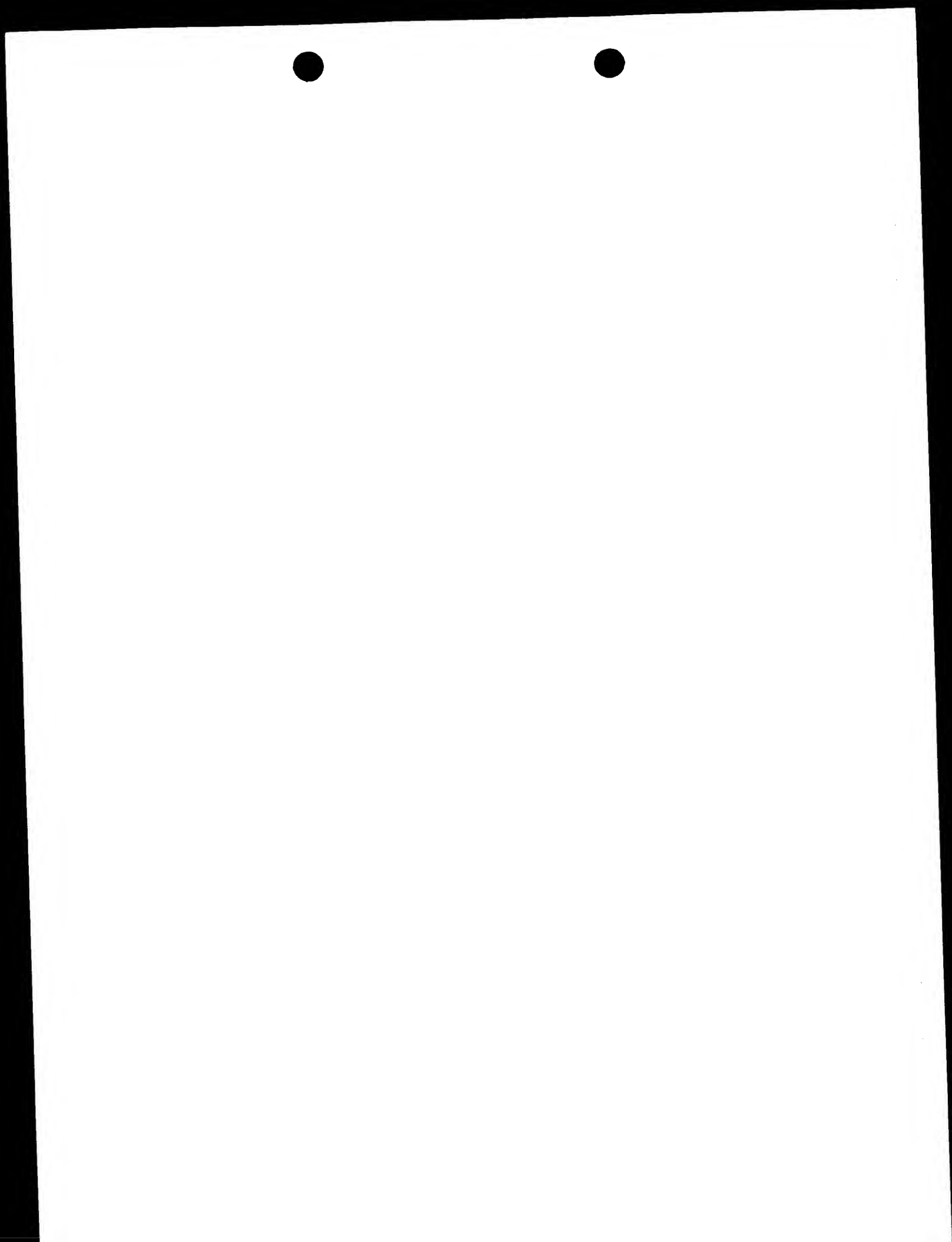
(A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
 (B) LÄNGE: 1..7346

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 1:

GAATTCGCTA	GAGCCCTAGA	GCCCCAGCAG	CACCCAGCCA	AACCCACCTC	CACCATGGGG	60
GCCATGACTC	AGCTGTTGGC	AGGTGTCTTT	CTTGCTTTCC	TTGCCCTCGC	TACCGAAGGT	120
GGGGTCCTCA	AGAAAGTCAT	CCGGCACAAAG	CGACAGAGTG	GGGTGAACGC	CACCCTGCCA	180
GAAGAGAACC	AGCCAGTGGT	GTTTAACCAC	GTTTACAACA	TCAAGCTGCC	AGTGGGATCC	240
CAGTGTTCCG	TGGATCTGGA	GTCAGCCAGT	GGGGAGAAAG	ACCTGGCACC	GCCTTCAGAG	300
CCCAGCGAAA	GCTTTCAGGA	GCACACAGTA	GATGGGGAAA	ACCAGATTGT	CTTCACACAT	360
CGCATCAACA	TCCCCCGCCG	GGCCTGTGGC	TGTGCCGCAG	CCCCTGATGT	TAAGGAGCTG	420
CTGAGCAGAC	TGGAGGAGCT	GGAGAACCTG	GTGTCTTCCC	TGAGGGAGCA	ATGTACTGCA	480
GGAGCAGGCT	GCTGTCTCCA	GCCTGCCACA	GGCCGCTTGG	ACACCAGGCC	CTTCTGTAGC	540
GGTCGGGGCA	ACTTCAGCAC	TGAAGGATGT	GGCTGTGTCT	GCGAACCTGG	CTGGAAAGGC	600
CCCAACTGCT	CTGAGCCCGA	ATGTCCAGGC	AACTGTCACC	TTCGAGGCCG	GTGCATTGAT	660
GGGCAGTGCA	TCTGTGACGA	CGGCTTCACG	GGCGAGGACT	GCAGCCAGCT	GGCTTGCCCC	720
AGCGACTGCA	ATGACCAGGG	CAAGTGCGTG	AATGGAGTCT	GCATCTGTTT	CGAAGGCTAC	780
GCGGCTGACT	GCAGCCGTGA	AATCTGCCCC	GTGCCCTGCA	GTGAGGAGCA	CGGCACATGT	840
GTAGATGGCT	TGTGTGTGTG	CCACGATGGC	TTTGCAGGCG	ATGACTGCAA	CAAGCCTCTG	900
TGTCTCAACA	ATTGCTACAA	CCGTGGACGA	TGCGTGAGGA	ATGAGTGCGT	GTGTGATGAG	960
GGTTTCACGG	GCGAAGACTG	CAGTGAGCTC	ATCTGCCCCA	ATGACTGCTT	CGACCGGGGC	1020
CGCTGCATCA	ATGGCACCTG	CTACTGCGAA	GAAGGCTTCA	CAGGTGAAGA	CTGCGGGAAA	1080
CCCACCTGCC	CACATGCCTG	CCACACCCAG	GGCCGCTGTG	AGGAGGGGCA	GTGTGTATGT	1140



GATGAGGGCT	TTGCCGGTGT	GGACTGCAGC	GAGAAGAGGT	GTCCTGCTGA	CTGTCCACAAT	1200
CGTGGCCGCT	GTGTAGACGG	GCGGTGTGAG	TGTGATGATG	GTTTCACTGG	AGCTGACTGT	1260
GGGGAGCTCA	AGTGTCCCAA	TGGCTGCAGT	GGCCATGGCC	GCTGTGTCAA	TGGGCAGTGT	1320
GTGTGTGATG	AGGGCTATAC	TGGGGAGGAC	TGCAGCCAGC	TACGGTGCCC	CAATGACTGT	1380
CACAGTCGGG	GCCGCTGTGT	CGAGGGCAAA	TGTGTATGTG	AGCAAGGCTT	CAAGGGCTAT	1440
GACTGCAGTG	ACATGAGCTG	CCCTAATGAC	TGTCACCAGC	ACGGCCGCTG	TGTGAATGGC	1500
ATGTGTGTTT	GTGATGACGG	CTACACAGGG	GAAGACTGCC	GGGATCGCCA	ATGCCCCAGG	1560
GACTGCAGCA	ACAGGGGCCT	CTGTGTGGAC	GGACAGTGCG	TCTGTGAGGA	CGGCTTCACC	1620
GGCCCTGACT	GTGCAGAACT	CTCCTGTCCA	AATGACTGCC	ATGGCCAGGG	TCGCTGTGTG	1680
AATGGGCAGT	GCGTGTGCCA	TGAAGGATTT	ATGGGCAAAG	ACTGCAAGGA	GCAAAGATGT	1740
CCCAGTGACT	GTGATGGCCA	GGGCCGTGCG	TGGGACGGCC	AGTGCATCTG	CCAGAGGGGC	1800
TTCACAGGCC	TGGACTGTGG	CCAGCACTCC	TGCCCCAGTG	ACTGCAACAA	CTTAGGACAA	1860
TGCGTCTCGG	GCCGCTGCAT	CTGCAACGAG	GGCTACAGCG	GAGAAGACTG	CTCAGAGGTG	1920
TCTCCTCCCA	AAGACCTCGT	TGTGACAGAA	GTGACGGAAG	AGACGGTCAA	CCTGGCCTGG	1980
GACAATGAGA	TGCGGGTCAC	AGAGTACCTT	GTGCTGTACA	CGCCACCCA	CGAGGGTGGT	2040
CTGGAAATGC	AGTTCCGTGT	GCCTGGGGAC	CAGACGTCCA	CCATCATCCG	GGAGCTGGAG	2100
CCTGGTGTGG	AGTACTTTAT	CCGTGTATTT	GCCATCCTGG	AGAACAAGAA	GAGCATTCCT	2160
GTCAGCGCCA	GGGTGGCCAC	GTACTTACCT	GCACCTGAAG	GCCTGAAATT	CAAGTCCATC	2220
AAGGAGACAT	CTGTGGAAGT	GGAGTGGGAT	CCTCTAGACA	TTGCTTTTGA	AACCTGGGAG	2280
ATCATCTTCC	GGAAATATGA	TAAAGAAGAT	GAGGGAGAGA	TCACCAAAAG	CCTGAGGAGG	2340
CCAGAGACCT	CTTACCGGCA	AACTGGTCTA	GCTCCTGGGC	AAGAGTATGA	GATATCTCTG	2400
CACATAGTGA	AAAACAATAC	CCGGGGCCCT	GGCCTGAAGA	GGGTGACCAC	CACACGCTTG	2460
GATGCCCCCA	GCCAGATCGA	GGTGAAAGAT	GTCACAGACA	CCACTGCCTT	GATCACCTGG	2520
TTCAAGCCCC	TGGCTGAGAT	CGATGGCATT	GAGCTGACCT	ACGGCATCAA	AGACGTGCCA	2580
GGAGACCGTA	CCACCATCGA	TCTCACAGAG	GACGAGAACC	AGTACTCCAT	CGGGAACCTG	2640
AAGCCTGACA	CTGAGTACGA	GGTGTCCCTC	ATCTCCCGCA	GAGGTGACAT	GTCAAGCAAC	2700
CCAGCCAAAG	AGACCTTCAC	AACAGGCCTC	GATGCTCCCA	GGAACTCTCG	ACGTGTTTCC	2760
CAGACAGATA	ACAGCATCAC	CCTGGAATGG	AGGAATGGCA	AGGCAGCTAT	TGCAGTTTAC	2820
AGAATTAAGT	ATGCCCCCAT	CTCTGGAGGG	GACCACGCTG	AGGTTGATGT	TCCAAAAGAGC	2880
CAACAAGCCA	CAACCAAAAC	CACACTCACA	GGTCTGAGGC	CGGGAACTGA	ATATGGGATT	2940
GGAGTTTCTG	CTGTGAAGGA	AGACAAGGAG	AGCAATCCAG	CGACCATCAA	CGCAGCCACA	3000
GAGTTGGACA	CGCCCAAGGA	CCTTCAGGTT	TCTGAAACTG	CAGAGACCAG	CCTGACCCTG	3060
CTCTGGAAGA	CACCGTTGGC	CAAATTTGAC	CGCTACCGCC	TCAATTACAG	TCTCCCCACA	3120
GGCCAGTGGG	TGGGAGTGCA	GCTTCCAAGA	AACACCACTT	CCTATGTCCT	GAGAGGCCTG	3180
GAACCAGGAC	AGGAGTACAA	TGTCCTCCTG	ACAGCCGAGA	AAGGCAGACA	CAAGAGCAAG	3240
CCCGCAGCTG	TGAAGGCATC	CACTGAACAA	GGCCCTGAGC	TGGAACACCT	CACCGTGACT	3300
GAGGTTGGCT	GGGATGGCCT	CAGACTCAAC	TGGACCGCGG	CTGACCAGGC	CTATGAGCAC	3360
TTTATCATTC	AGGTGCAGGA	GGCCAACAAG	GTGGAGGCAG	CTCGGAACCT	CACCGTGCCT	3420
GGCAGCCTTC	GGGCTGTGGA	CATACCGGGC	CTCAAGGCTG	CTACGCCTTA	TACAGTCTCC	3480
ATCTATGGGG	TGATCCAGGG	CTATAGAACA	CCAGTGCTCT	CTGCTGAGGC	CTCCACAGGG	3540
GAAACTCCCA	ATTTGGGAGA	GGTCGTGGTG	GCCGAGGTGG	GCTGGGATGC	CCTCAAACCTC	3600
AACTGGACTG	CTCCAGAAGG	GGCCTATGAG	TACTTTTTTCA	TTGAGGTGCA	GGAGGCTGAC	3660
ACAGTAGAGG	CAGCCCAGAA	CCTCACCGTC	CCAGGAGGAC	TGAGGTCCAC	AGACCTGCCT	3720
GGGCTCAAAG	CAGCCACTCA	TTATACCATC	ACCATCCGCG	GGGTCACCTA	GGACTTCAGC	3780
ACAACCCCTC	TCTCTGTTGA	AGTCTTGACA	GAGGAGGTTT	CAGATATGGG	AAACCTCACA	3840
GTGACCGAGG	TTAGCTGGGA	TGCTCTCAGA	CTGAACCTGGA	CCACGCCAGA	TGGAACCTAT	3900
GACCAGTTTA	CTATTGAGGT	CCAGGAGGCT	GACCAGGTGG	AAGAGGCTCA	CAATCTCACG	3960
GTTCTTGCCA	GCCTGCGTTC	CATGGAAATC	CCAGGCCTCA	GGGCTGGCAC	TCCTTACACA	4020
GTCACCTTGC	ACGGCGAGGT	CAGGGGCCAC	AGCACTCGAC	CCCTTGCTGT	AGAGGTGCTC	4080
CAGTGGGACG	TGCCGCTCCA	GTCCCCGGTG	TCGTGAGCTG	GGGAACGACA	TCTCCAGCAG	4140
ACAGAGGATC	TCCCACAGCT	GGGAGATTTA	GCCGTGTCTG	AGGTTGGCTG	GGATGGCCTC	4200
AGACTCAACT	GGACCGCAGC	TGACAATGCC	TATGAGCACT	TTGTCAATTCA	GGTGCAGGAG	4260
GTCAACAAAG	TGGAGGCAGC	CCAGAACCTC	ACGTTGCCTG	GCAGCCTCAG	GGCTGTGGAC	4320
ATCCCGGGCC	TCGAGGCTGC	CAGCCCTTAT	AGAGTCTCCA	TCTATGGGGT	GATCCGGGGC	4380
TATAGAACAC	GAGTACTCTC	TGCTGAGGCC	TCCACAGCCA	AAGAACCCTGA	AATTGGAAAC	4440
TTAAATGTTT	CTGACATAAC	TCCCAGAGAG	TTCAATCTCT	CCTGGATGGC	TACCGATGGG	4500
ATCTTCGAGA	CCTTTACCAT	TGAAATTATT	GATTCCAATA	GGTTGCTGGA	GACTGTGGAA	4560
TATAATATCT	CTGGTGCTGA	ACGAAGTGGC	CATATCTCAG	GGCTACCCCC	TAGTACTGAT	4620
TTTATTGTCT	ACCTCTCTGG	ACTTGCTCCC	AGCATCCGGA	CCAAAACCAT	CAGTGCCACA	4680
GCCACGACAG	AGGCCCTGCC	CCTTCTGGAA	AACCTAACCA	TTTCCGACAT	TAATCCCTAC	4740
GGGTTTCACAG	TTTCCTGGAT	GGCATCGGAG	AATGCCTTTG	ACAGCTTTCT	AGTAACGGTG	4800
GTGGATTCTG	GGAAGCTGCT	GGACCCCCAG	GAATTCACAC	TTTCAGGAAC	CCAGAGGAAG	4860
CTGGAGCTTA	GAGGCCTCAT	AACTGGCATT	GGCTATGAGG	TTATGGTCTC	TGGCTTCACC	4920



CAAGGGCATC	AAACCAAGCC	CTTGAGGGCT	GAGATTGTTA	CAGAAGCCGA	ACCGGAAGTT	4980
GACAACCTTC	TGGTTTCAGA	TGCCACCCCA	GACGGTTTCC	GTCTGTCCTG	GACAGCTGAT	5040
GAAGGGGTCT	TCGACAATTT	TGTTCTCAAA	ATCAGAGATA	CCAAAAAGCA	GTCTGAGCCA	5100
CTGGAAATAA	CCCTACTTGC	CCCCGAACGT	ACCAGGGACA	TAACAGGTCT	CAGAGAGGCT	5160
ACTGAATACG	AAATTGAACT	CTATGGAATA	AGCAAAGGAA	GGCGATCCCA	GACAGTCAGT	5220
GCTATAGCAA	CAACAGCCAT	GGGCTCCCCA	AAGGAAGTCA	TTTTCTCAGA	CATCACTGAA	5280
AATTCGGCTA	CTGTCAGCTG	GAGGGCACCC	ACGGCCCCAAG	TGGAGAGCTT	CCGGATTACC	5340
TATGTGCCCC	TTACAGGAGG	TACACCCTCC	ATGGTAACTG	TGGACGGAAC	CAAGACTCAG	5400
ACCAGGCTGG	TGAAACTCAT	ACCTGGCGTG	GAGTACCTTG	TCAGCATCAT	CGCCATGAAG	5460
GGCTTTGAGG	AAAGTGAACC	TGTCTCAGGG	TCATTACCA	CAGCTCTGGA	TGGCCCATCT	5520
GGCCTGGTGA	CAGCCAACAT	CACTGACTCA	GAAGCCTTGG	CCAGGTGGCA	GCCAGCCATT	5580
GCCACTGTGG	ACAGTTATGT	CATCTCCTAC	ACAGGCGAGA	AAGTGCCAGA	AATTACACGC	5640
ACGGTGTCCG	GGAACACAGT	GGAGTATGCT	CTGACCGACC	TCGAGCCTGC	CACGGAATAC	5700
ACACTGAGAA	TCTTTGCAGA	GAAAGGGCCC	CAGAAGAGCT	CAACCATCAC	TGCCAAGTTC	5760
ACAACAGACC	TCGATTCTCC	AAGAGACTTG	ACTGCTACTG	AGGTTCACTC	GGAAACTGCC	5820
CTCCTTACCT	GGCGACCCCC	CCGGGCATCA	GTCAACGGTG	ACCTGCTGGT	CTATGAATCA	5880
GTGGATGGCA	CAGTCAAGGA	AGTCATTGTG	GGTCCAGATA	CCACCTCCTA	CAGCCTGGCA	5940
GACCTGAGCC	CATCCACCCA	CTACACAGCC	AAGATCCAGG	CACTCAATGG	GCCCCTGAGG	6000
AGCAATATGA	TCCAGACCAT	CTTCACCACA	ATTGGACTCC	TGTACCCCTT	CCCCAAGGAC	6060
TGCTCCCAAG	CAATGCTGAA	TGGAGACACG	ACCTCTGGCC	TCTACACCAT	TTATCTGAAT	6120
GGTGATAAGG	CTCAGGCGCT	GGAAGTCTTC	TGTGACATGA	CCTCTGATGG	GGGTGGATGG	6180
ATTGTGTTCC	TGAGACGCAA	AAACGGACGC	GAGAACTTCT	ACCAAACTG	GAAGGCATAT	6240
GCTGCTGGAT	TTGGGGACCG	CAGAGAAGAA	TTCTGGCTTG	GGCTGGACAA	CCTGAACAAA	6300
ATCACAGCCC	AGGGGCAGTA	CGAGCTCCGG	GTGGACCTGC	GGGACCATGG	GGAGACAGCC	6360
TTTGCTGTCT	ATGACAAGTT	CAGCGTGGGA	GATGCCAAGA	CTCGCTACAA	GCTGAAGGTG	6420
GAGGGGTACA	GTGGGACAGC	AGGTGACTCC	ATGGCCTACC	ACAATGGCAG	ATCCTTCTCC	6480
ACCTTTGACA	AGGACACAGA	TTCAGCCATC	ACCAACTGTG	CTCTGTCTAC	AAGGGGCTTC	6540
TGGTACAGGA	ACTGTCACCG	TGTCAACCTG	ATGGGGAGAT	ATGGGGACAA	TAACCACAGT	6600
CAGGGCGTTA	ACTGGTTCCA	CTGGAAGGGC	CACGAACACT	CAATCCAGTT	TGCTGAGATG	6660
AAGCTGAGAC	CAAGCAACTT	CAGAAATCTT	GAAGGCAGGC	GCAAACGGGC	ATAAATTGGA	6720
GGGACCACTG	GGTGAGAGAG	GAATAAGGCG	GCCCAGAGCG	AGGAAAGGAT	TTTACCAAAG	6780
CATCAATACA	ACCAGCCCCA	CCATCGGTCC	ACACCTGGGC	ATTTGGTGAG	AATCAAAGCT	6840
GACCATGGAT	CCCTGGGGCC	AACGGCAACA	GCATGGGCCT	CACCTCCTCT	GTGATTTCTT	6900
TCTTTGCACC	AAAGACATCA	GTCTCCAACA	TGTTTCTGTT	TTGTTGTTTG	ATTCAGCAAA	6960
AATCTCCCAG	TGACAACATC	GCAATAGTTT	TTTACTTCTC	TTAGGTGGCT	CTGGGATGGG	7020
AGAGGGGTAG	GATGTACAGG	GGTAGTTTGT	TTTAGAACCA	GCCGTATTTT	ACATGAAGCT	7080
GTATAATTAA	TTGTCAATAT	TTTTGTTAGC	AAAGATTAAA	TGTGTCATTG	GAAGCCATCC	7140
CTTTTTTTTAC	ATTTTCATACA	ACAGAAAACCA	GAAAAGCAAT	ACTGTTTCCA	TTTTAAGGAT	7200
ATGATTAATA	TTATTAATAT	AATAATGATG	ATGATGATGA	TGAAAACATA	GGATTTTTTCA	7260
AGAGATCTTT	CTTTCCAAAA	CATTTCTGGA	CAGTACCTGA	TTGTATTTTT	TTTTTAAATA	7320
AAAGCACAAAG	TACTTTTGAA	AAAAAA				7346

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 2:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÖNGE: 17 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

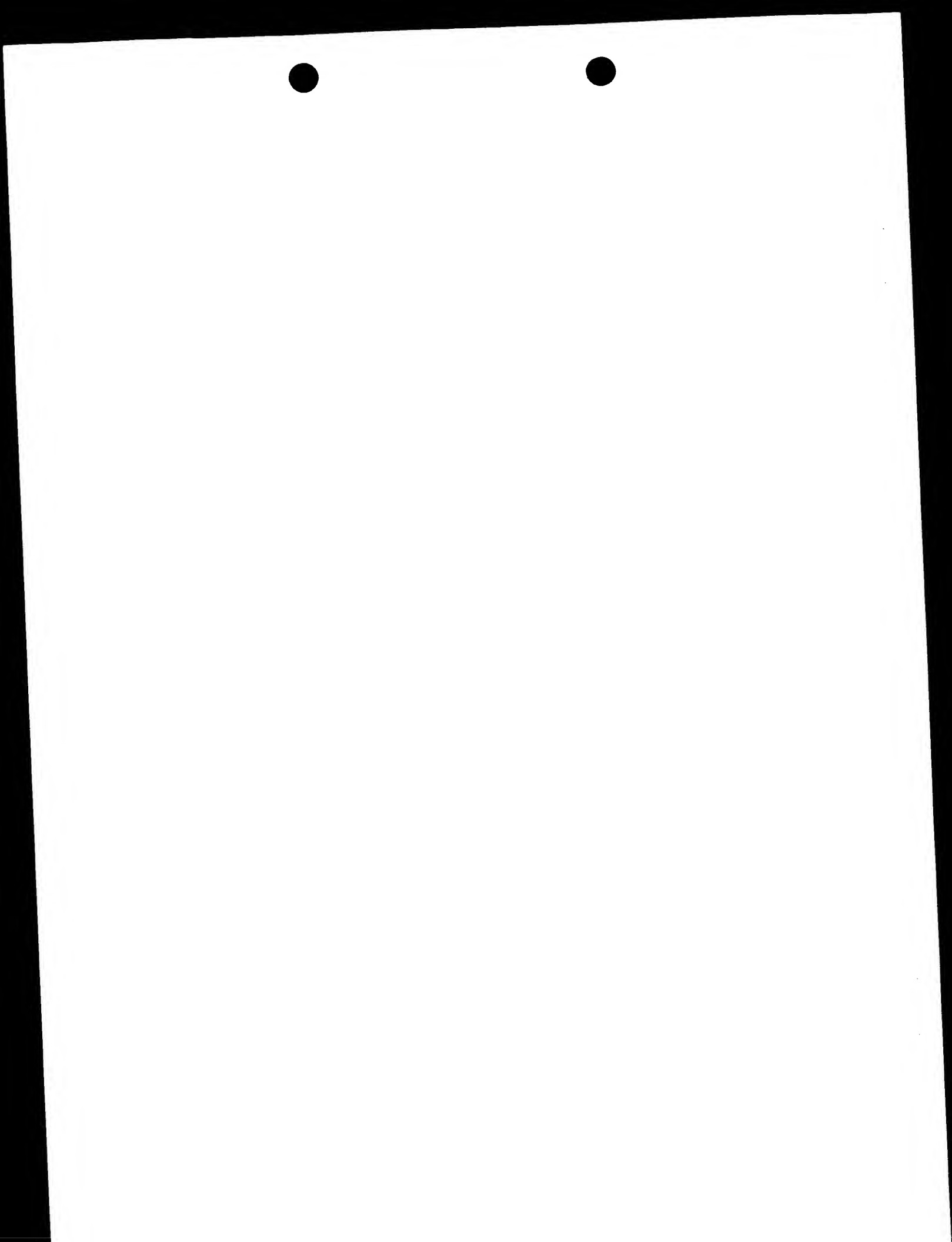
- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE: 1..17

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 2:

GGTTTGGGTG GAGGTGG

17

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 3:



- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
(A) LÖNGE: 17 Basenpaare
(B) ART: Nukleinsäure
(C) STRANGFORM: Einzelstrang
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

- (ix) MERKMAL:
(A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
(B) LAGE:1..17

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 3:

GGAGGTGGTA CCCCCG

17

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 4:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
(A) LÖNGE: 14 Basenpaare
(B) ART: Nukleinsäure
(C) STRANGFORM: Einzelstrang
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

- (ix) MERKMAL:
(A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
(B) LAGE:1..14

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 4:

GGTGGTACCC CCGG

14

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 5:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
(A) LÖNGE: 14 Basenpaare
(B) ART: Nukleinsäure
(C) STRANGFORM: Einzelstrang
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

- (ix) MERKMAL:
(A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
(B) LAGE:1..14

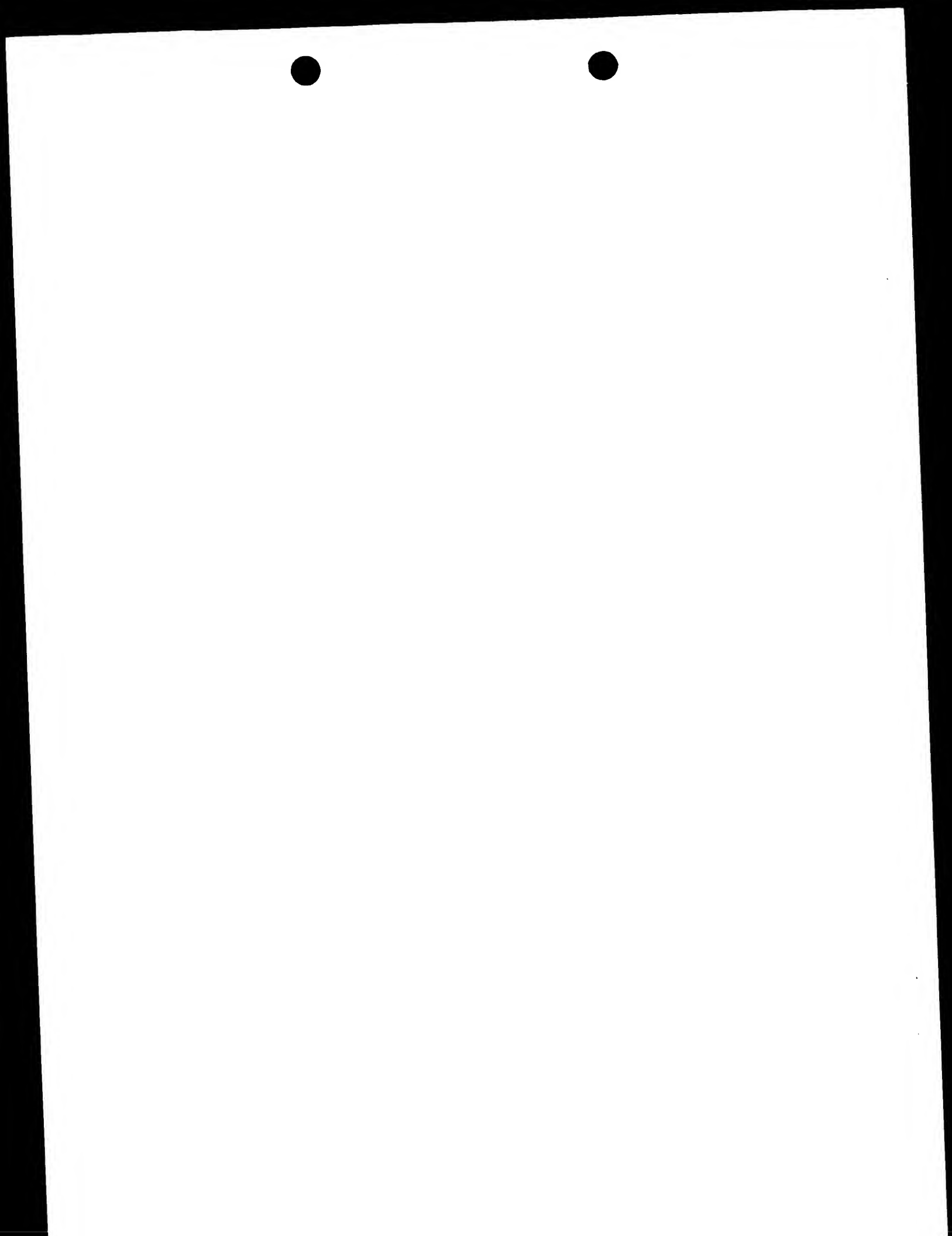
(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 5:

GGAGGTGGTA CCCC

14

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 6:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
(A) LÖNGE: 17 Basenpaare
(B) ART: Nukleinsäure
(C) STRANGFORM: Einzelstrang
(D) TOPOLOGIE: linear



(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE:1..17

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 6:

AGAAAGAACG AAAGGAA

17

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 7:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 12 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE:1..12

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 7:

GGAGGTGGTA CC

12

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 8:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 16 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE:1..16

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 8:

GGAGCGATGG CTTCCA

16

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 9:

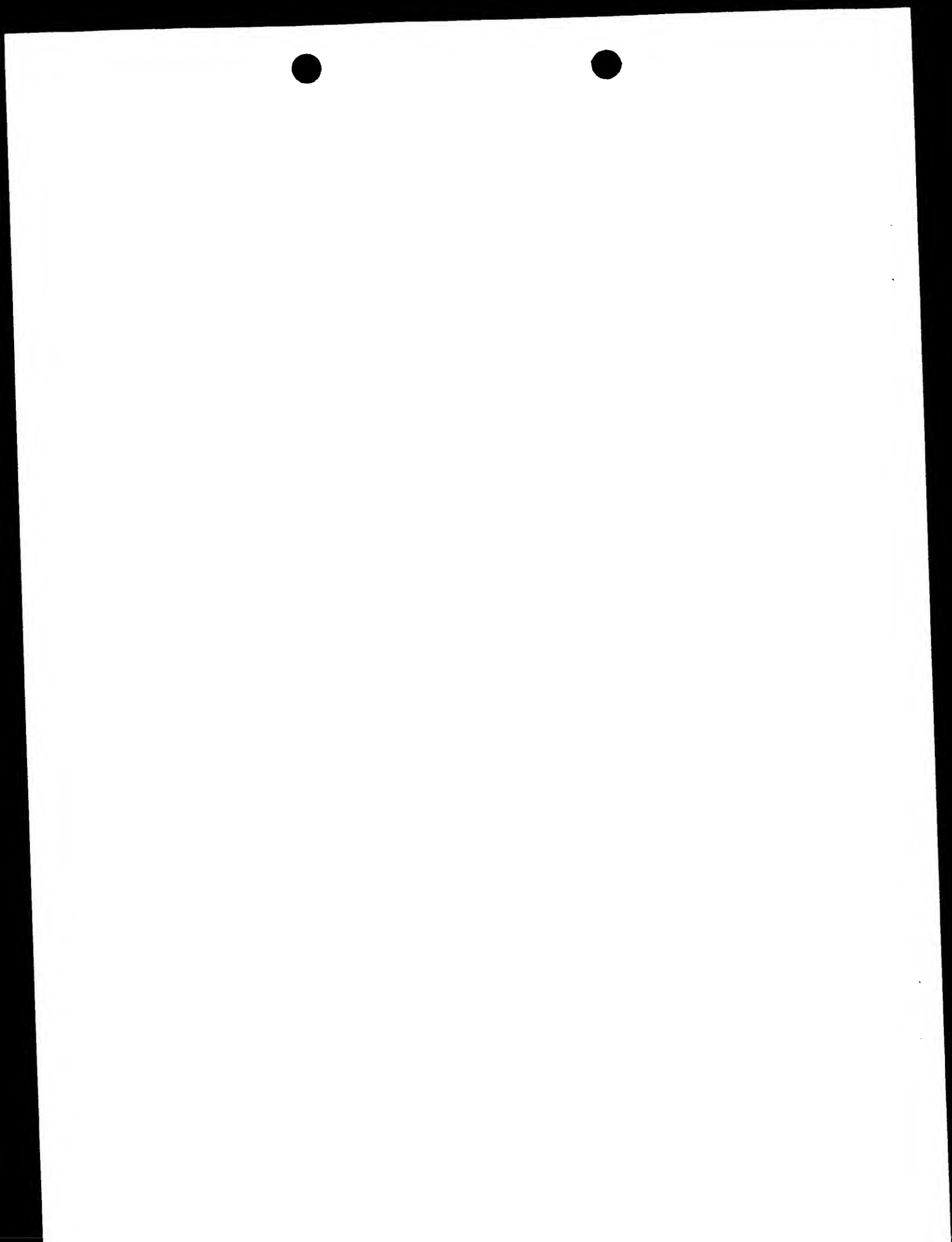
(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 15 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE:1..15



(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 9:

AAAGGAACGG GAGCG

15

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 10:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÖNGE: 15 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE: 1..15

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 10:

GGTCGGTTTG GGTGG

15

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 11:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÖNGE: 16 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE: 1..16

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 11:

CTTACAGGTC CGTTGA

16

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 12:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÖNGE: 15 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

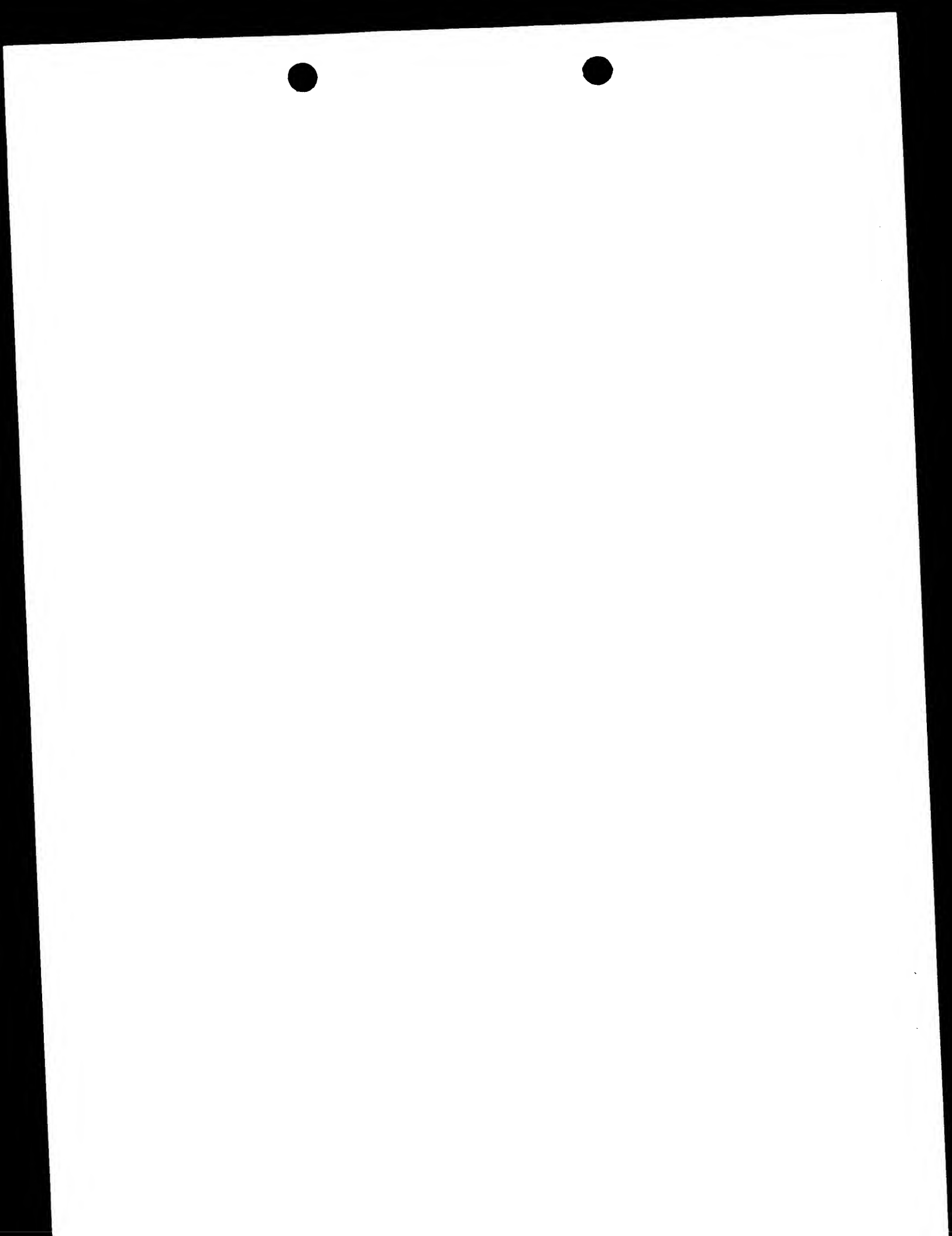
(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE: 1..15

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 12:

GGCCGTGTTT GCTGT

15



7

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 13:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÖNGE: 16 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE:1..16

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 13:

TCACCCCTCT TTCTGG

16

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 14:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÖNGE: 14 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE:1..14

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 14:

GGACACCGAC ACGG

14

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 15:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÖNGE: 14 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE:1..14

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 15:

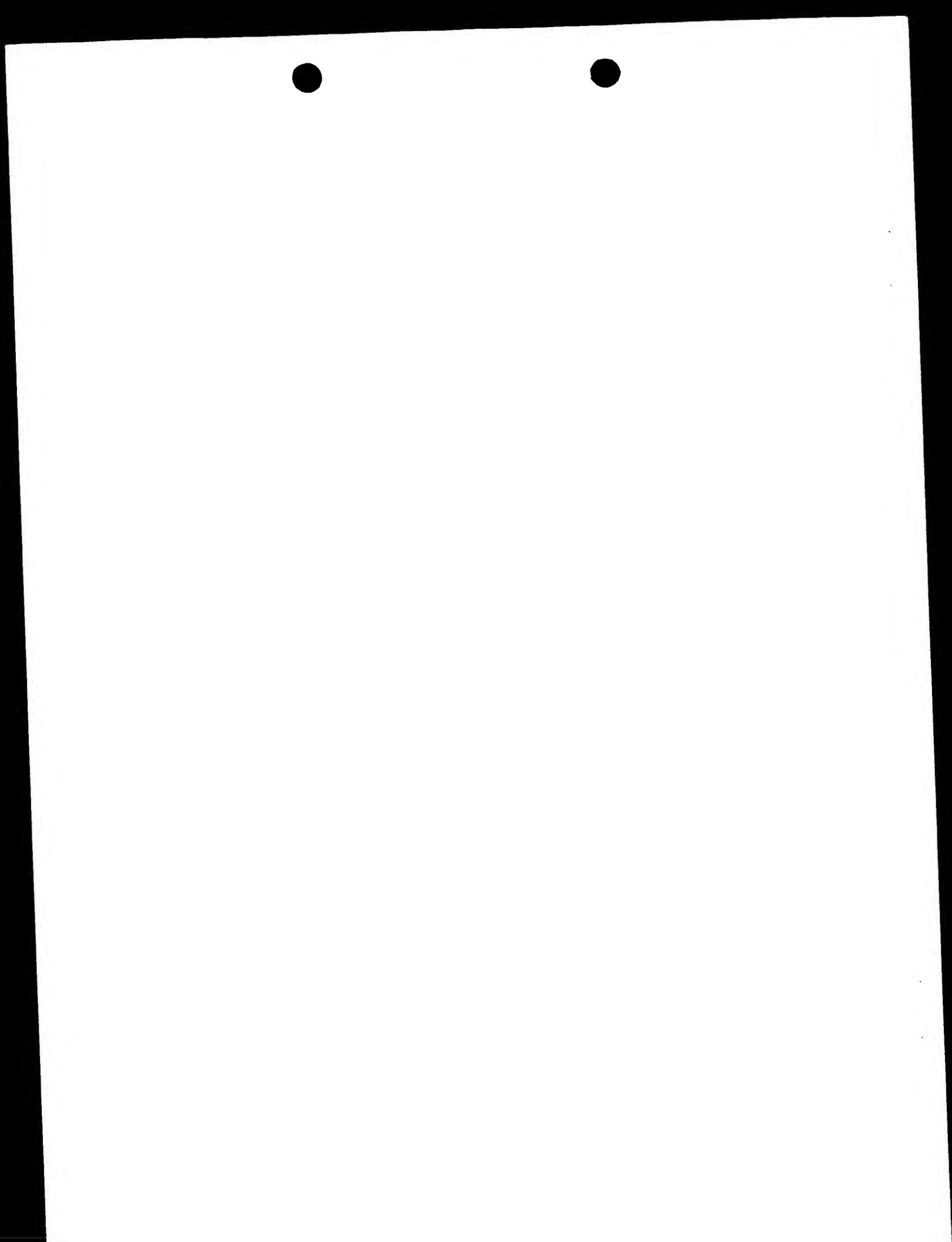
AACGGGAGCG ATGG

14

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 16:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÖNGE: 14 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang



(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: exon

(B) LAGE:1..14

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 16:

ATCTCGGGGT CGTC

14

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 17:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÖNGE: 15 Basenpaare

(B) ART: Nukleinsäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: exon

(B) LAGE:1..15

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 17:

AAAGAACGAA AGGAA

15

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 18:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÖNGE: 11 Basenpaare

(B) ART: Nukleinsäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: exon

(B) LAGE:1..11

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 18:

GGTGGTACCC C

11

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 19:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

(A) LÖNGE: 11 Basenpaare

(B) ART: Nukleinsäure

(C) STRANGFORM: Einzelstrang

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: exon



(B) LAGE:1..11

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 19:

CCCGGTACTG A

11

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 20:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 13 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE:1..13

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 20:

CCACAGAAAG AAC

13

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 21:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 17 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE:1..17

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 21:

GGTTTGGGTG GAGGTGG

17

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 22:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 17 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE:1..17

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 22:

GGAGGTGGTA CCCCCGG

17



(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 23:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
(A) LÖNGE: 14 Basenpaare
(B) ART: Nukleinsäure
(C) STRANGFORM: Einzelstrang
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

- (ix) MERKMAL:
(A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
(B) LAGE:1..14

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 23:

GGTGGTACCC CCGG

14

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 24:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
(A) LÖNGE: 14 Basenpaare
(B) ART: Nukleinsäure
(C) STRANGFORM: Einzelstrang
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

- (ix) MERKMAL:
(A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
(B) LAGE:1..14

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 24:

GGAGGTGGTA CCCC

14

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 25:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
(A) LÖNGE: 17 Basenpaare
(B) ART: Nukleinsäure
(C) STRANGFORM: Einzelstrang
(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

- (ix) MERKMAL:
(A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
(B) LAGE:1..17

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 25:

AGAAAGAACG AAAGGAA

17

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 26:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
(A) LÖNGE: 12 Basenpaare
(B) ART: Nukleinsäure



11

- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE:1..12

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 26:

GGAGGTGGTA CC

12

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 27:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÖNGE: 16 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE:1..16

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 27:

GGAGCGATGG CTTCCA

16

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 28:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÖNGE: 15 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE:1..15

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 28:

AAAGGAACGG GAGCG

15

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 29:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÖNGE: 15 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:



12

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE: 1..15

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 29:

GGTCGGTTTG GGTGG

15

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 30:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
 - (A) LÄNGE: 16 Basenpaare
 - (B) ART: Nukleinsäure
 - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
 - (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE: 1..16

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 30:

CTTACAGGTC CGTTGA

16

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 31:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
 - (A) LÄNGE: 15 Basenpaare
 - (B) ART: Nukleinsäure
 - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
 - (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE: 1..15

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 31:

GGCCGTGTTT GCTGT

15

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 32:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
 - (A) LÄNGE: 16 Basenpaare
 - (B) ART: Nukleinsäure
 - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
 - (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE: 1..16

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 32:

TCACCCCTCT TTCTGG

16



(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 33:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
 - (A) LÖNGE: 14 Basenpaare
 - (B) ART: Nukleinsäure
 - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
 - (D) TOPOLOGIE: linear
- (ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)
- (ix) MERKMAL:
 - (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
 - (B) LAGE: 1..14
- (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 33:

GGACACCGAC ACGG

14

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 34:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
 - (A) LÖNGE: 14 Basenpaare
 - (B) ART: Nukleinsäure
 - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
 - (D) TOPOLOGIE: linear
- (ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)
- (ix) MERKMAL:
 - (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
 - (B) LAGE: 1..14
- (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 34:

AACGGGAGCG ATGG

14

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 35:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
 - (A) LÖNGE: 14 Basenpaare
 - (B) ART: Nukleinsäure
 - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
 - (D) TOPOLOGIE: linear
- (ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)
- (ix) MERKMAL:
 - (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
 - (B) LAGE: 1..14
- (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 35:

ATCTCGGGGT CGTC

14

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 36:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
 - (A) LÖNGE: 15 Basenpaare



14

- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE:1..15

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 36:

AAAGAACGAA AGGAA

15

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 37:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 11 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE:1..11

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 37:

GGTGGTACCC C

11

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 38:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 11 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE:1..11

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 38:

CCCGGTACTG A

11

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 39:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 13 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)



(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE:1..13

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 39:

CCACAGAAAG AAC

13

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 40:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 17 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE:1..17

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 40:

GGTTTGGGTG GAGGTGG

17

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 41:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 17 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE:1..17

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 41:

GGAGGTGGTA CCCCCGG

17

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 42:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 14 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE:1..14

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 42:



GGTGGTACCC CCGG

14

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 43:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 14 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE: 1..14

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 43:

GGAGGTGGTA CCCC

14

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 44:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 17 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE: 1..17

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 44:

AGAAAGAACG AAAGGAA

17

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 45:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 12 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE: 1..12

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 45:

GGAGGTGGTA CC

12

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 46:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:



17

- (A) LÄNGE: 16 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE:1..16

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 46:

GGAGCGATGG CTTCCA

16

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 47:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 15 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE:1..15

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 47:

AAAGGAACGG GAGCG

15

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 48:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 15 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE:1..15

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 48:

GGTCGGTTTG GGTGG

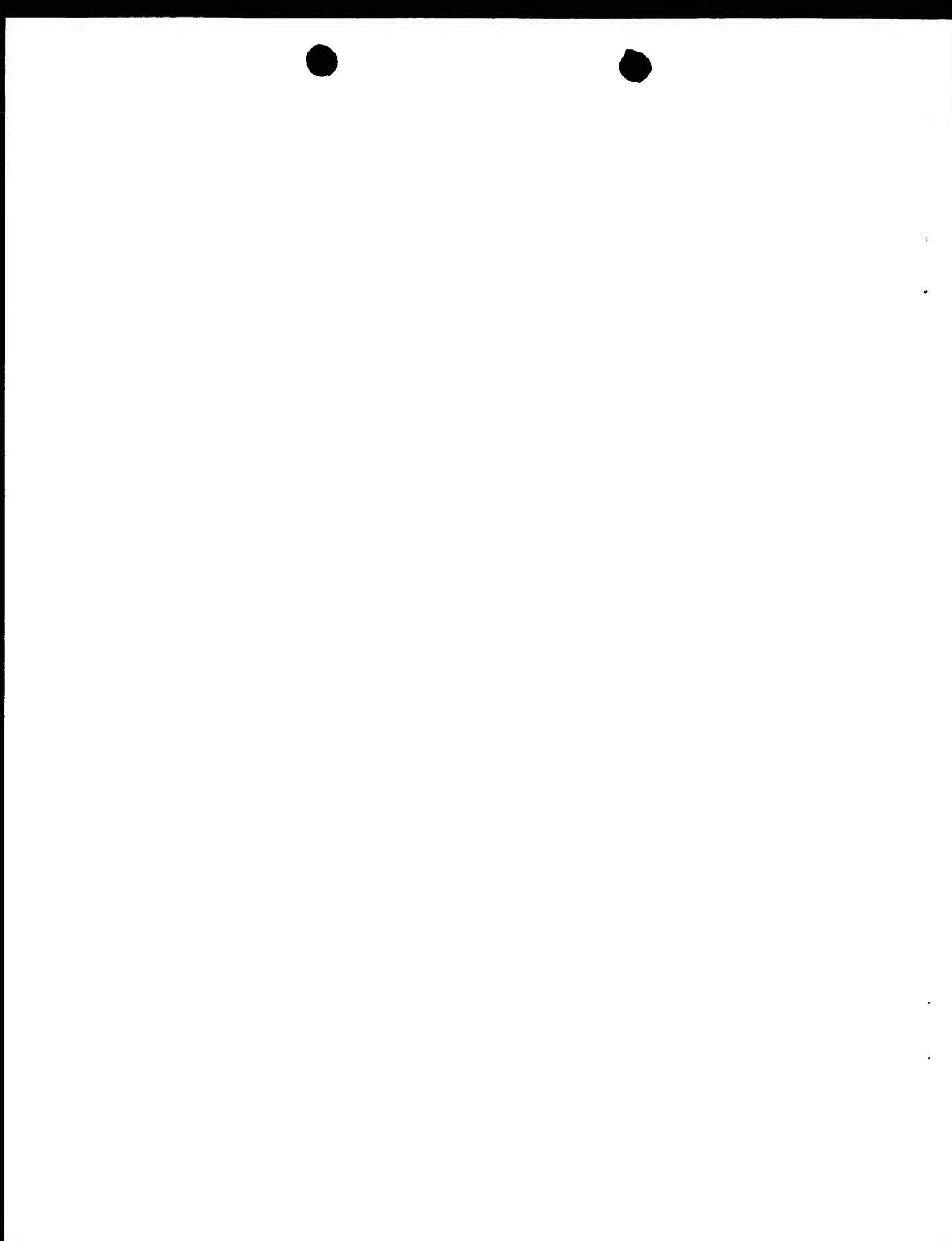
15

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 49:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 16 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)



(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE:1..16

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 49:

CTTACAGGTC CGTTGA

16

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 50:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 15 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE:1..15

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 50:

GGCCGTGTTC GCTGT

15

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 51:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

- (A) LÄNGE: 16 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE:1..16

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 51:

TCACCCCTCT TTCTGG

16

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 52:

(i) SEQUENZKENNZEICHEN:

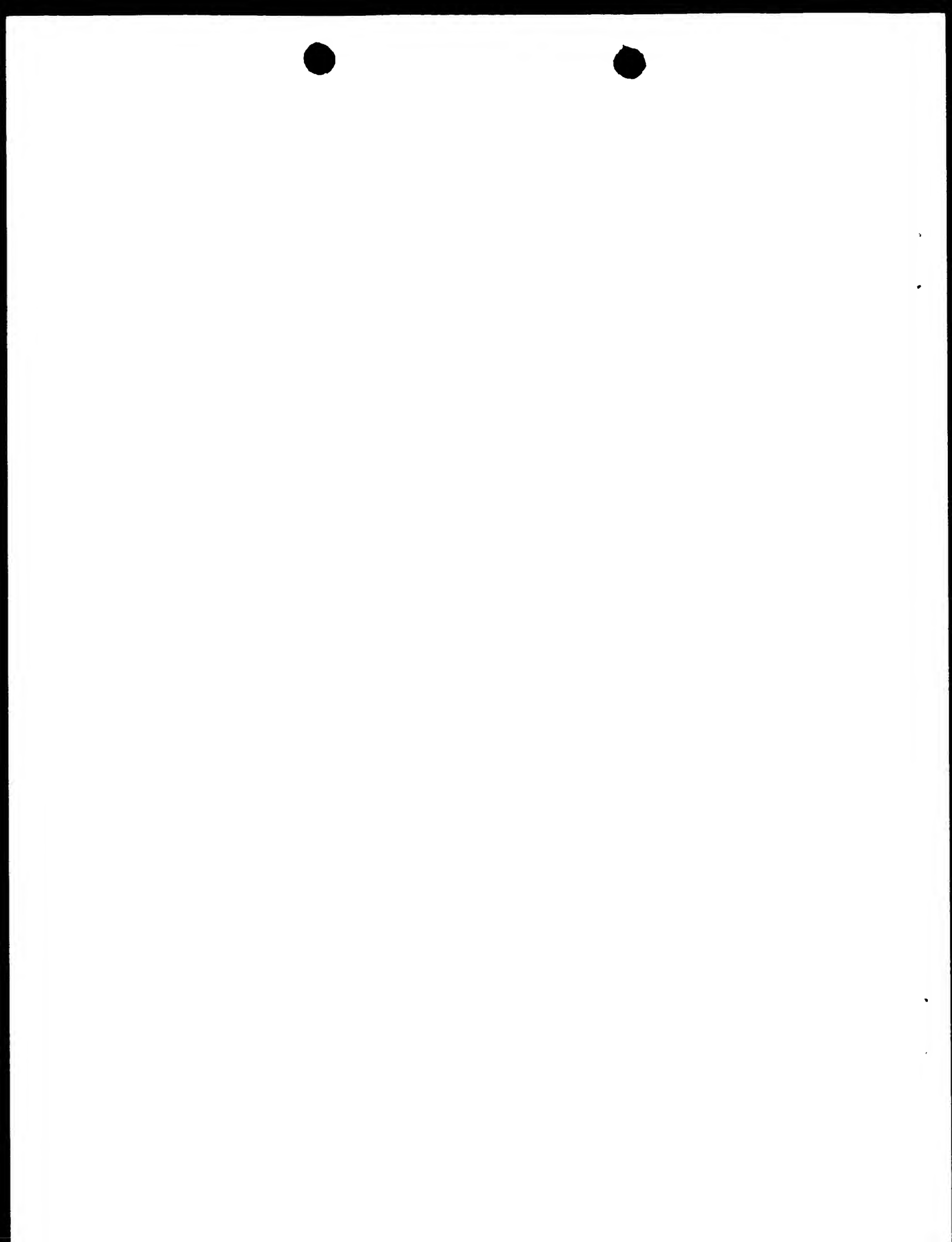
- (A) LÄNGE: 14 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzelstrang
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LAGE:1..14

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 52:



GGACACCGAC ACGG

14

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 53:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
 - (A) LÄNGE: 14 Basenpaare
 - (B) ART: Nukleinsäure
 - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
 - (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LGE: 1..14

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 53:

AACGGGAGCG ATGG

14

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 54:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
 - (A) LÄNGE: 14 Basenpaare
 - (B) ART: Nukleinsäure
 - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
 - (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LGE: 1..14

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 54:

ATCTCGGGGT CGTC

14

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 55:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
 - (A) LÄNGE: 15 Basenpaare
 - (B) ART: Nukleinsäure
 - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
 - (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)

(ix) MERKMAL:

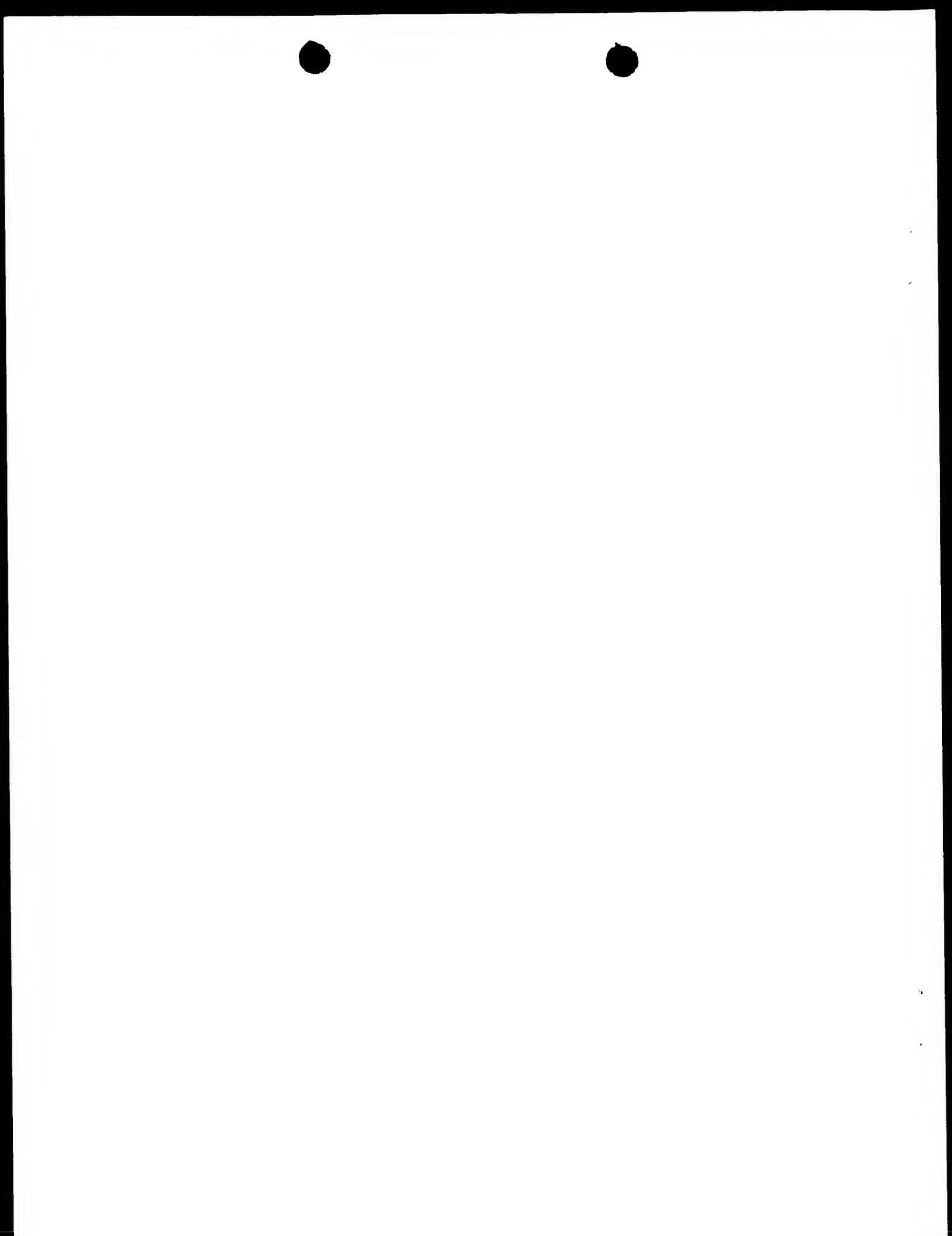
- (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
- (B) LGE: 1..15

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 55:

AAAGAACGAA AGGAA

15

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 56:



- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
 - (A) LÖNGE: 11 Basenpaare
 - (B) ART: Nukleinsäure
 - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
 - (D) TOPOLOGIE: linear
- (ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)
- (ix) MERKMAL:
 - (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
 - (B) LAGE:1..11
- (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 56:

GGTGGTACCC C

11

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 57:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
 - (A) LÖNGE: 11 Basenpaare
 - (B) ART: Nukleinsäure
 - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
 - (D) TOPOLOGIE: linear
- (ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)
- (ix) MERKMAL:
 - (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
 - (B) LAGE:1..11
- (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 57:

CCCGGTACTG A

11

(2) ANGABEN ZU SEQ ID NO: 58:

- (i) SEQUENZKENNZEICHEN:
 - (A) LÖNGE: 13 Basenpaare
 - (B) ART: Nukleinsäure
 - (C) STRANGFORM: Einzelstrang
 - (D) TOPOLOGIE: linear
- (ii) ART DES MOLEKÜLS: DNA (genomisch)
- (ix) MERKMAL:
 - (A) NAME/SCHLÜSSEL: exon
 - (B) LAGE:1..13
- (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 58:

CCACAGAAAG AAC

13

